



RECEP TAYYIP
ERDOĞAN
ÜNİVERSİTESİ

**T.C.
RECEP TAYYIP ERDOĞAN ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI**

***Aedes aegypti* ve *Aedes albopictus*'UN TÜRKİYE'DEKİ
DAĞILIMININ, VEKTÖRLÜK DURUMLARININ
BELİRLENMESİ VE POPULASYON GENETİĞİ**

(Doktora Tezi)

Murat ÖZTÜRK

**Danışman
Prof. Dr. Muhammet Mustafa AKINER**

**RİZE
2023**

KABUL VE ONAY

Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi, Lisansüstü Eğitim Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalında, Prof. Dr. Muhammet Mustafa AKINER danışmanlığında, Murat ÖZTÜRK tarafından hazırlanan *Aedes aegypti* ve *Aedes albopictus*'un Türkiye'deki Dağılımının, Vektörlük Durumlarının Belirlenmesi ve Populasyon Genetiği adlı bu tez çalışması, 09/06/2023 tarihinde yapılan savunma sınavı sonucunda oy birliği/oy çokluğuyla başarılı bulunarak jürimiz tarafından **Doktora Tezi** olarak kabul edilmiştir.

Jüri Üyeleri	Unvanı, Adı SOYADI	İmza
Başkan	: Prof. Dr. Ahmet Mutlu GÖZLER	
Üye	: Prof. Dr. Fatih Ş. BERİŞ	
Üye	: Prof. Dr. M. Mustafa AKINER	
Üye	: Prof. Dr. Yusuf BEKTAŞ	
Üye	: Dr. Öğr. Üy. Hilal BEDİR	

ETİK BEYAN

Biyoloji Doktora Programından mezun olmak üzere teslim ettiğim “*Aedes aegypti* ve *Aedes albopictus*’un Türkiye'deki Dağılımının, Vektörlük Durumlarının Belirlenmesi ve Populasyon Genetiği” adlı tezim, bilim ve araştırma etiği prensiplerine riayet edilerek tarafımdan yazılmıştır.

Tez çalışmamda, başka kaynaklardan aktarılan bütün bilgi ve alıntılar, Enstitünüz Tez Yazım Kılavuzuna uygun olarak açıkça gösterilmiştir. Kaynağı gösterilenler dışında kalan bütün bilgiler uygun araştırma yöntemi kullanılarak tarafımdan edinilmiş ve esere bu şekilde yansıtılmıştır. Şahsıma ait olmayan hiçbir bilgi, kasıt veya kusurlar, şahsıma aitmiş gibi gösterilmemiştir. İnternet kaynakları dâhil, sahibine/kaynağına atıf yapılmaksızın hiçbir bilgi kullanılmamıştır. Aksinin ortaya çıkması halinde doğacak bütün hukuki, idari, akademik ve etik sorumluluk tarafıma ait olacaktır. Eserin tesliminden sonra herhangi bir zamanda, bilim etiğine aykırılık tespit edilmesi ve / veya eserimle ilgili intihal veya intihal şeklinde anlaşılacak bir durumun ortaya çıkması halinde; Üniversiteniz ve eğitim kadronuzun hiçbir şekilde sorumlu tutulmayacağını hür irademle kabul, beyan ve taahhüt ederim.

09/ 06/ 2023

Murat ÖZTÜRK

ÖN SÖZ

Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı Doktora Programında gerçekleştirilen bu tezde, ülkemizde istilacı türler olan *Ae. albopictus* ve *Ae. aegypti* türlerinin Türkiye’deki dağılım alanlarının belirlenmesi ve bu türlerin taşıdıkları hastalıkların belirlenmesi ve türün moleküler olarak tanımlanması ve moleküler veriler kullanılarak türlerin Türkiye’deki popülasyon durumları ve bu popülasyonların olası kökenlerinin araştırılmasını amaçlamıştır.

Hem doktora süreci boyunca hem de ve tezimi bitirmemde benden hiçbir şekilde desteğini ve sevgisini esirgemeyen değerli eşim Sevgi Öztürk’e şükran, minnet ve sevgilerimi sunmayı bir borç bilirim.

Yüksek lisans ve doktora öğrenciliğim ve tez çalışma sürecinde benden bilgi ve desteğini esirgemeyen, her zaman bana ilham veren değerli danışman hocam Sayın Prof. Dr. M. Mustafa AKINER’e, ve Prof. Dr. Asu USTA’ya, değerli jüri üyelerim Prof. Dr. Ahmet Mutlu GÖZLER, Prof. Dr. Fatih Şaban BERİŞ ve Prof. Dr. Yusuf BEKTAŞ, Dr. Öğr. Üy. Hilal BEDİR’e ve diğer emeği geçen hocalarıma teşekkürlerimi sunarım.

“Bu çalışma TUBİTAK tarafından desteklenmiştir. Proje Numarası: 117Z116”
(“This work was supported by TUBİTAK. Project Number: 117z116”)

Murat ÖZTÜRK
2023/RİZE

İÇİNDEKİLER

KABUL VE ONAY	I
ETİK BEYAN.....	II
ÖN SÖZ	III
İÇİNDEKİLER	IV
ÖZET	VI
ABSTRACT.....	VII
KISALTMALAR.....	VIII
TABLolar LİSTESİ.....	X
ŞEKİLLER LİSTESİ.....	XI
GİRİŞ	1
1. GENEL BİLGİLER.....	6
2. YAPILAN ÇALIŞMALAR	21
2.1. Türlerin Dağılım Alanlarının Belirlenmesi.....	21
2.2. Arazi Çalışmaları	21
2.3. Örneklerin Toplanması ve Saklanması	24
2.4. Morfolojik Tür Ayrımı.....	26
2.5. DNA İzolasyonu Yapılması.....	26
2.6. Hedef Gen Bölgelerinin Çoğaltılması.....	27
2.6.1. COI (C1) Gen Bölgesinin Çoğaltılması	27
2.6.2. ND4 (N4) Gen Bölgesinin Çoğaltılması	28
2.6.3. ITS (I1) Gen Bölgesinin Çoğaltılması.....	28
2.6.4. COI (C2) Gen Bölgesinin Çoğaltılması	29
2.6.5. ND5 (N5) Gen Bölgesinin Çoğaltılması	29
2.6.6. ITS 2 (I2) Gen Bölgesinin Çoğaltılması.....	30
2.7. DNA Dizi Verilerinin Değerlendirilmesi ve Biyoinformatik Analizi .	31
2.8. Çalışmada Kullanılan Karşılaştırma Sekans Dizilerini Elde Edilmesi	32
2.9. Virüs Varlığının Araştırılması	32
2.9.1. RNA İzolasyonu ve nRT-PZR Reaksiyonu.....	32
2.9.2. Komplementer DNA (cDNA) Sentezi.....	33

2.9.3.	Örneklerinde Flavivirüs RNA'sının Araştırılması	34
2.9.4.	Örneklerinde Alphavirus RNA'sının Araştırılması	34
2.9.5.	Örneklerinde Phlebovirus RNA'sının Araştırılması	35
3.	BULGULAR	37
3.1.	<i>Ae. albopictus</i> ve <i>Ae. aegypti</i> Türlerinin Türkiye'deki dağılımı	37
3.2.	Arazi Çalışmalarından Elde Edilen Bulgular.....	37
3.3.	Türlerin Jelden Doğrulanması ve Diğer Gen Bölgelerinden Elde Edilen Bulgular	38
3.4.	<i>Ae. albopictus</i> için Moleküler Analizler ve Genetik Yapı.....	38
3.4.1.	İllere Ait Popülasyonlar Arasındaki İlişki	40
3.4.2.	AMOVA Analizi	41
3.4.3.	Coğrafi Bölgelerin Muhtemel Kökenleri.....	42
3.5.	<i>Ae. aegypti</i> için Moleküler Analizler ve Genetik Yapı.....	44
3.5.1.	Gen Bölgelerine Göre <i>Ae. aegypti</i> 'nin Varyasyonu	44
3.5.2.	Gen Bölgelerine Ait Dizilerin Filocografik Analizi	46
3.5.3.	<i>Ae. aegypti</i> 'den Elde Edilen Dizilerin Konbinasyonları ile Elde Edilen Sonuçlar.....	50
3.5.3.1.	Kombine Sekanslara Göre Popülasyonlar Arasındaki İlişkiler .	51
3.5.3.2.	Türkiye ve Gürcistan örnekleri arasındaki AMOVA analizi	52
3.6.	Virüs Taramalarından Elde Edilen Bulgular	53
3.6.1.	Havuzlara Ait Örneklerin Moleküler Doğrulaması ve ND5 (N5) Varyasyonu	53
3.6.2.	Sivrisinek havuzları	54
3.6.3.	Sivrisinek havuzlarında tanımlanan virüs dizileri	55
4.	TARTIŞMA	58
	KAYNAKÇA.....	69

Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi Lisansüstü Eğitim Enstitüsü

Ana Bilim Dalı : Biyoloji
Tez Türü : Doktora
Danışman : Prof. Dr. M. Mustafa AKINER
Hazırlayan : Murat ÖZTÜRK
Yıl : 2023
Sayfa Sayısı : 87

ÖZET

***Aedes aegypti* ve *Aedes albopictus*'UN TÜRKİYE'DEKİ DAĞILIMININ, VEKTÖRLÜK DURUMLARININ BELİRLENMESİ VE POPULASYON GENETİĞİ**

Aedes aegypti (L., 1762) ve *Aedes albopictus* (Skuse, 1895) (Diptera: Culicidae) arbovirüslerin önemli vektörleridir. Türkiye'de *Ae. albopictus* ilk kez 2011 yılında Türkiye'nin kuzeybatısındaki Trakya bölgesinde tespit edilmiştir. 2015 yılında *Ae. albopictus*'un Karadeniz bölgesinde, 2018 yılında Ege bölgesinde yerleşik popülasyonları ortaya çıkarılmıştır. *Ae. aegypti* ise Türkiye'nin kuzeydoğusunda yeniden rapor edilmiştir. Yapılan bu tezde bu türlerin hem arazi hem de literatür taramalarıyla türlerin güncel dağılım alanları belirlenmiş, popülasyon genetiği parametreleri kullanılarak bu türlerin olası giriş yolları, olası kökenleri ve türlerin güncel vektörlük durumları araştırılmıştır. Bu amaç doğrultusunda yapılan arazi çalışmalarında ve daha önce yapılan çalışmalarda rapor edilen lokasyonlar kullanılmıştır. Toplanan örnekler morfolojik olarak ve jelden elde edilen bant büyüklüklerine göre teşhis edilmiştir. Türlerin olası giriş yollarının belirlenmesi ve popülasyon genetiklerinin ortaya çıkarılması amacıyla *Ae. albopictus* için mitokondrial COI gen bölgesi kullanılmıştır. *Ae. aegypti* içinde örneklerin kısıtlı olması nedeniyle genomik ITS2 gen bölgesi ve mitokondrial iki COI, bir ND4 ve bir ND5 gen bölgeleri kullanılmıştır. Elde edilen sonuçlarda *Ae. albopictus* COI gen bölgesi için üç haplotip belirlenmiş (Hap_1, Hap_2 ve Hap_3) ve Hap_1 en baskın haplotip ve bütün bölgelerde varlığı belirlenmiştir. Hap_2 yalnızca Karadeniz ve Marmara örneklerinde bulunurken, Hap_3 yalnızca Ege örneklerinde bulunmuştur. Olası üç invazyonun test edilmesi amacıyla yapılan AMOVA testinde Ege, Marmara ve Karadeniz popülasyonları arasında anlamlı farklar belirlenmiştir. Yapılan Fst testi, AMOVA testi sonuçlarını büyük oranda desteklemiştir. Dünya örnekleri kullanılarak yapılan sonuçlarda Karadeniz ve Marmara soylarının olası kökeni ılıman soy olarak belirlenirken, Ege bölgesi soylarının olası kökeni ılıman ve tropik soyların karışımı olmasının muhtemel olduğu belirlenmiştir. *Ae. aegypti* türü için yapılan çalışmalarda AMOVA testi sonuçlarına göre Türkiye ve Gürcistan örnekleri arasında anlamlı fark gözlemlenmemiştir. Bu durum Türkiye'deki türün Gürcistan kökenli bir soy olduğu ve Türkiye için yeni bir invazyon olmadığını ortaya koymuştur. Elde edilen veriler türün genetik varyasyonunun doğudan batıya doğru azaldığını göstermiştir. Bazı haplotiplerin, yalnızca Karadeniz ve Kafkasya bölgesine karakterize olduğu belirlenmiştir. Yapılan filogenetik ağaçlarında Karadeniz bölgesindeki *Ae. aegypti* soyları her bir gen bölgesi için belirli bir bölgeye ait örneklerle kümelenme göstermemiştir. Bu sonuçlar Karadeniz bölgesindeki *Ae. aegypti* soyunun 1950'li yıllardan kalma soy olabileceğine işaret ediyor olabilir. Türlerin olası vektörlük durumlarının araştırılması amacıyla yapılan çalışmalarda 2018 yılında Rize ve Çayeli'nde Batı Nil virüsü (BNV) ve Artvin, Hopa'da ise *Ae. filavivirüs* varlığı tespit edilmiştir. 2019 yılında ise Çayeli, Fındıklı, Arhavi İstanbul Adalar ve Kırklareli örneklerinde BNV varlığı, Fındıklı ve İstanbul Adalar örneklerinde *Ae. filavivirüs* ve Hopa örneklerinde Cell fusing agent belirlenmiştir.

Anahtar Kelimeler: *Aedes albopictus*, *Aedes aegypti*, Muhtemel Orijin, Varyasyon

Recep Tayyip Erdogan University Institute of Graduate Studies

Department : Biology
Thesis Type : Doctoral Thesis
Supervisor : Prof. Dr. M. Mustafa AKINER
Author : Murat ÖZTÜRK
Year : 2023
Pages : 87

ABSTRACT

**DISTRIBUTION in TURKEY, DETERMINATION of VECTOR STATUS
and POPULATION GENETICS of *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus***

Aedes aegypti (L., 1762) and *Aedes albopictus* (Skuse, 1895) (Diptera: Culicidae) are important vectors of arboviruses. In Turkey, *Ae. albopictus* was first identified in 2011 in the Thrace region of northwest part of Turkey. Resident populations of *Ae. albopictus* were revealed in the Black Sea region in 2015 and in the Aegean region in 2018. *Ae. aegypti* was re-reported in northeastern Turkey. In this thesis, the current distribution areas of these species were determined by both field and literature surveys, possible invasion routes of these species, possible origins and current vector status of these species were investigated by using population genetic parameters. For this purpose, the locations reported in the field studies and previous studies were used. Collected samples were identified morphologically and by band sizes obtained from the gel. The mitochondrial COI gene region for *Ae. albopictus* was used to detect possible invasion routes of the species and to reveal population genetics. For *Ae. aegypti*, due to limited samples, the genomic ITS2 gene region and two mitochondrial COI, one ND4 and one ND5 gene regions were used. In the results obtained, three haplotypes were determined for the *Ae. albopictus* COI gene region (Hap_1, Hap_2 and Hap_3) and Hap_1 was the most dominant haplotype and its presence was determined in all regions. Hap_2 was found only in Black Sea and Marmara samples, while Hap_3 was found only in Aegean samples. Significant differences were determined between Aegean, Marmara and Black Sea populations in the AMOVA test performed to test three possible invasions. The Fst test performed greatly supported the results of the AMOVA test. In the results made using world samples, it was determined that the possible origin of the Black Sea and Marmara lineages was determined as temperate lineage, while the possible origin of the Aegean region lineages was determined to be a mixture of temperate and tropical lineages. According to the AMOVA test results in studies conducted for *Ae. aegypti* species, no significant difference was observed between Turkey and Georgia samples. This situation revealed that the species in Turkey is a lineage of Georgian origin and that it is not a new invasion for Turkey. The data obtained showed that the genetic variation of the species decreased from east to west. It has been determined that some haplotypes are characterized only in the Black Sea and Caucasus regions. In the phylogenetic trees, *Ae. aegypti* lineages in the Black Sea region did not cluster with samples belonging to a specific region for each gene region. These results may indicate that the *Ae. aegypti* lineage in the Black Sea region may be a lineage dating back to the 1950s. In the studies conducted to investigate the possible vector status of the species, the presence of Rize and Çayeli West Nile virus and *Ae. filavivirus* in Artvin Hopa were detected for 2018. In 2019, the presence of West Nile virus was detected in Çayeli, Fındıklı, Arhavi Istanbul islands and Kırklareli samples, *Ae. filavivirus* in Fındıklı and Istanbul islands samples, and Cell fusing agent in Hopa samples.

Keywords: *Aedes albopictus*, *Aedes aegypti*, Possible Origin, Variation

KISALTMALAR

Ae.	:	<i>Aedes</i>
AMOVA	:	Moleküler Varyans Analizi (Analysis of molecular variance)
BNV	:	Batı Nil virüsü
Bp	:	Baz çifti
°C	:	Santigrat Derece
CHIKV	:	Chikungunya virüsü
COI	:	Sitokrom c oksidaz subunit 1
DDT	:	Dikloro Difenol Trikloroethan
DENV	:	Deng virüsü
dH ₂ O	:	Distile su
dk	:	Dakika
DNA	:	Deoksiribonükleik asit
dNTP	:	Deoksinükleotit fosfat
ECDC	:	Avrupa Hastalık Kontrol Merkezi (European Centre for Disease Prevention and Control)
EDTA	:	Etilen diamin tetra asetik asit
ELİSA	:	Enzime linked immunosorbent assay
EVS	:	Ensefalit Vektör Araştırması (Encephalitis Virus Surveillance)
g	:	Gravite
GPS	:	Küresel Konumlama Sistemi (Global Positioning System)
H	:	Haplotip
Hd	:	Haplotip çeşitliliği (Haplotype Diversity)
HLC	:	İnsana Konanları Yakalama (Human Landing Catch)
ITS	:	Dahili Transkripsiyonlu Ayırıcı (Internal transcribed spacer)
JE	:	Japon ensefalit virüsü
L.	:	Linnaeus
LD	:	Kepçe daldırma (Larval Digging)
MEM	:	Minimum temel ortam (Minimal Essential Medium)
mg	:	Miligram
MgCl ₂	:	Magnezyum klorür

mL	:	Mililitre
mM	:	Milimolar
ND4	:	NADH Dehidrojenaz
ng	:	Nanogram
nM	:	Nanometre
NS	:	Anlamsız değer (Non Significant)
OV	:	Ovitrap tuzaklar (Ovitrap traps)
p	:	Anlamlılık seviyesi
pmol	:	Piko mol
PZR	:	Polimeraz zincir reaksiyonu
RNA	:	Ribonükleik Asit
rpm	:	Dakikadaki devir sayısı
S	:	Polimorfik bölgeler
Sn.	:	Saniye
<i>Taq</i>	:	<i>Thermus aquaticus</i>
U	:	Ünite
UV	:	Ultraviyole ışık
WHO	:	Dünya Sağlık Örgütü (World Health Organization)
YF	:	Sarı humma (Yellow Fever)
ZIKV	:	Zika virüsü
µg	:	Mikrogram
µL	:	Mikrolitre
Π	:	Nükleotid çeşitliliği
%	:	Yüzde
µL	:	Mikrolitre

TABLolar LİSTESİ

Tablo 1. Örneklem için seçilen alanlar ve örneklerin toplanma şekilleri	23
Tablo 2. Çalışmada kullanılan gen bölgelerine ait primerler, gen bölgelerine verilen kodlar ve reaksiyon koşulları	30
Tablo 3. Gen bölgelerine verilen kodlar ve reaksiyon koşulları	31
Tablo 4. Nested PZR için kullanılacak primerler, hedef gen bölgeleri, pozisyonları, büyüklükleri ve alındıkları kaynak çalışmalar	36
Tablo 5. <i>Ae. albopictus</i> 'un COI gen dizilerindeki genetik çeşitliliği.	39
Tablo 6. Mitokondriyal COI dizileri kullanılarak 13 ilin <i>Ae. albopictus</i> popülasyonları için farklılıkları	41
Tablo 7. Coğrafi bölgeler arasında moleküler varyans analizi (AMOVA).....	42
Tablo 8. Mitokondriyal COI dizileri kullanılarak Türkiye'deki ve dünyanın farklı yerlerindeki üç bölgesel soy arasındaki farklılıklar.	43
Tablo 9. <i>Ae. aegypti</i> elde edilen sekans dizilerinin genel bilgileri.....	44
Tablo 10. <i>Ae. aegypti</i> için beş gen bölgesinde belirlenen mutasyon noktaları	45
Tablo 11. Kombine haplotiplerin frekansları ve dağılımları.....	51
Tablo 12. Kombine sekanslara göre 6 popülasyon arasındaki farklar	52
Tablo 13. Türkiye ve Gürcistan örnekleri arasındaki AMOVA analizi ve fiksasyon indeksi.....	52
Tablo 14. Örnekleme yerlerine ve toplama yıllarına göre havuzlar.....	55

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 1. <i>Ae. albopictus</i> ergininin görüntüsü.....	8
Şekil 2. <i>Ae. aegypti</i> erginini görüntüsü.....	9
Şekil 3. <i>Ae. albopictus</i> için tarama yapılan alanlar.....	21
Şekil 4. <i>Ae. aegypti</i> için tarama yapılan alanlar	22
Şekil 5. <i>Ae. albopictus</i> için örneklem noktaları.....	22
Şekil 6. İzole edilen RNA görüntüsü.....	33
Şekil 7. Yıllara göre <i>Ae. albopictus</i> 'un Türkiye'deki invazyon öyküsü	37
Şekil 8. <i>Ae. aegypti</i> ve <i>Ae. albopictus</i> için gen bölgelerine ait jel görüntüsü.....	38
Şekil 9. <i>Ae. albopictus</i> COI (C1) gen bölgesi haplotiplerinin bölgelere göre dağılımlarını gösteren haplotip ağı	40
Şekil 10. İllere göre alanların gruplandırılması	42
Şekil 11. <i>Ae. aegypti</i> , COI (C1) için Maximum likelihood filogenetik ağacı	46
Şekil 12. <i>Ae. aegypti</i> , COI (C2) için Maximum likelihood filogenetik ağacı	47
Şekil 13. <i>Ae. aegypti</i> , ND4 (N4) için Maximum likelihood filogenetik ağacı.....	48
Şekil 14. <i>Ae. aegypti</i> , ND5 (N5) için Maximum likelihood filogenetik ağacı.....	49
Şekil 15. <i>Ae. aegypti</i> , ITS2 (I2) için Maximum likelihood filogenetik ağacı	50
Şekil 16. Kombine sekanslardan elde edilen 6 haplotipin ilişkiler.....	51
Şekil 17. Moleküler doğrulama için kullanılan ND5 gen bölgesi filogenetik ağacı .	54
Şekil 18. Filavivürüs pozitif çıkan bazı örneklerin jel görüntüsü.....	56
Şekil 19. Filavivürüs sekansları ile hazırlanan maksimum likelihood ağacı.....	57

GİRİŞ

Vektör kaynaklı hastalıklar, dünya nüfusunun yaklaşık % 30'unu etkileyerek halk sağlığı için tehdit oluşturmaktadırlar (Mboera vd., 2016; Golding vd., 2015; WHO, 2017). Özellikle böcekler tarafından insanlara bulaşan viral patojen arbovirüsler, son yıllarda insidanslarındaki ve coğrafi dağılımlarındaki hızlı artış gösteren deng humması (DENV), zika (ZIKV), ve chikungunya (CHIKV) gibi tıbbi öneme sahip ve aktif epidemiyolojik sürveyans gerektiren arbovirüslerdir (Jones vd., 2008; Guzman and Harris, 2015; Gould vd., 2017; Paixao vd., 2018; Young, 2018; Kraemer vd., 2019). Tropikal ve subtropikal ülkelerde en yaygın viral enfeksiyon olan DENV (Wilder-Smith vd., 2010; Bhatt vd., 2013; Murray vd., 2013; Patterson vd., 2016; Sukhralia vd., 2019), yılda 100 ila 400 milyon insanı enfekte etmektedir ve insidansı son yıllarda 30 kat artmıştır (Guzman vd., 2016; Pollett vd., 2018). 2000 yıllardan bu yana yalnızca Asya kıtasında ara sıra meydana gelen CHIKV vakaları 2000'li, yıllardan sonra Asya, Amerika ve Avrupa kıtalarına yayılmış ve önemli salgınlara neden olmuştur (Weaver vd., 2018; Ketkar vd., 2019; Jones vd., 2020).

Ae. aegypti ve *Ae. albopictus* DENV, CHIKV ve ZIKV enfeksiyonlarının insanlara bulaşmasında öncelikli vektörleridir (Kraemer vd., 2015; Leta vd., 2018). Bu iki türün dağılım alanlarının genişlemesinde; şehirleşmenin artması, ulaşım imkanlarının hızla genişlemesi, ticaret hacminin dünya genelinde büyümesi ve küresel iklim değişikliği ve farklı insektisit gruplarına karşı geliştirilen direnç ve türlerin biyolojik potansiyelleri önemli etkenlerdir (Morens vd., 2004; Brady vd., 2014; Goindin vd., 2015; Kraemer vd., 2015b; Liu-Helmersson vd., 2016; Mayer vd., 2017; Kraemer vd., 2019; Morales vd., 2019; Ryan vd., 2019).

Ae. albopictus başta zika, deng, chikungunya gibi vektörel hastalık dahil toplam 26 tane arbovirüsün birincil vektörüdür (Paupy vd., 2009; Waldock vd., 2013; Bhatt vd., 2013, Weaver & Lecuit 2015, Weaver vd. 2016). Ayrıca bu arboviral hastalıklara ek olarak *Dirofilaria immitis* ve *D. fensial* gibi filaryal hastalıkların dolaşımında önemli rol oynar (Waldock vd., 2013; Eritja vd., 2005). Tür güneydoğu Asya'nın tropikal ormanlarında yerlidir. Ancak son birkaç on yılda tür Antarktika kıtası hariç hemen bütün kıtalarda rapor edilmiştir (Knudsen, 1995, Paupy vd., 2009; Rochlin vd., 2013; Ngoagouni vd., 2015). Türün bu kadar geniş alanlara yayılmasındaki ana

faktörler kullanılmış lastik ve şanslı bambu ticaretidir (Aranda vd., 2006; Benedict vd., 2007; Medlock vd., 2015; Pichler vd., 2019). Bunun yanında *Ae. albopictus* sahip olduğu güçlü fiziksel ve biyolojik plastisitesi, başarılı bir şekilde yeni popülasyonlar kurmasına ve hızlı yayılmasına ekstra katkılar sağlamıştır. (Kamgang vd., 2011; Ngoagouni vd., 2015).

Avrupa'da *Ae. albopictus*'un iki farklı invazyonu bilinmektedir. Bunlardan ilki 1979 yılında rapor edilen Arnavutluk invazyonu ve 1990 yılında gerçekleşen İtalya invazyonudur (Adhami ve Murati, 1987; Sabatini vd., 1990). Tür, 1990'lı yıllardan itibaren tüm kıtada yayılmaya başlamış ve çeşitli yollardan neredeyse tüm Avrupa'yı işgal etmiştir (Sherpa vd., 2018; Konorov vd., 2021). Türkiye çevresindeki bölgelerde ise tür daha önce Balkanlarda, Kafkasya bölgesinde ve Doğu Akdeniz kıyılarında bildirilmiştir (Samanidou-Voyadjoglou vd., 2005; Giatropoulos vd., 2012; Konorov vd., 2021).

Ae. albopictus Yayladağ sınır kapısının yaklaşık 60 km güneyinde bulunan Suriye, Latakia'de 2005 yılında bildirilmiştir (Haddad vd., 2007; Öter vd., 2013). Balkanlar'da, *Ae. albopictus* ilk kez 2005 yılında kuzeybatı Yunanistan'da bildirilmiş ve en olası istila yolunun Arnavutluk ve/veya İtalya'dan Yunanistan'a gelen feribot trafiğinin sorumlu olduğu düşünülmektedir (Samanidou-Voyadjoglou vd., 2005, Giatropoulos vd., 2012). Bunun yanında Bulgaristan'da *Ae. albopictus*'un varlığı 2005'ten önce biliniyordu, ancak ilk olarak 2011'de bir bilimsel toplantıda rapor edilmiştir (Samanidou-Voyadjoglou vd., 2005; Öter vd., 2013). Kafkaslarda ise *Ae. albopictus* ilk olarak 2011 yılında Sochi/Rusya'da (Kuzey Kafkasya) tespit edilmiştir (Ganushkina vd., 2012). Sonraki birkaç yıl içinde neredeyse tüm Batı Karadeniz kıyılarında rapor edilmiş ve sonunda 2015'te Gürcistan ve Türkiye'de tespit edilmiştir (Akıner vd., 2016; Konorov vd., 2021).

Türkiye'de *Ae. albopictus*, ülkenin batı ve doğu bölgelerindeki farklı zamanlarda rapor edilmiştir (Öter vd., 2013; Akıner vd., 2016; Demirci vd., 2021a). 2011 yılında *Ae. albopictus* ilk olarak Türkiye'nin Trakya bölgesinde, Yunanistan'a sınır kenti olan Edirne civarında raporlanmıştır. Ardından, dört yıl sonra Doğu Karadeniz kıyısında Artvin, Rize ve Trabzon illerinde varlığı doğrulanmıştır. 2016 yılında Marmara bölgesinin iç kesimleri Kocaeli ve İstanbul illerinde, 2018 yılında Ege bölgesinde İzmir'de (Aliağa limanı) belirlenmiştir. Yapılan son çalışmalarda türün

Karadeniz, Marmara ve Ege bölgelerindeki sahil kentleri boyunca yayıldığı ortaya konulmuştur (Öter vd., 2013; Demirci vd., 2021a; Yavaşoğlu, 2021).

Ae. aegypti (L., 1762), aynı zamanda sarı humma sivrisineği olarak bilinir. Başlıca sarıhumma, deng ve chikungunya hastalıklarının insanlara bulaşmasından sorumludur. Afrika kökenli olan bu tür 17. ve 20. yüzyılları arasında Afrika kıtasından diğer kıtalara yayılmaya başlamış ve 1950'li yıllarda Akdeniz, Karadeniz ve Hazar denizi kıyı ülkelerini istila etmiştir (Schaffner ve Mathis, 2014; Espinal vd., 2019; Souza-Neto vd., 2019). Ancak türün neden olduğu hastalıkların mücadelesi için başlatılan türle mücadele ve diğer vektör türlerle yapılan mücadele sonucunda ortadan kaybolmuştur (Schaffner ve Mathis, 2014; Kotsakiozi vd., 2018). Kafkasya bölgesinde *Ae. aegypti* ilk olarak 1911 yılında Batum'da rapor edilmiş ve 20 yıl boyunca türün bu alanda yüksek popülasyon seviyelerine ulaştığı belirlenmiştir. Ancak 2001 yılına kadar türün Kafkasya bölgesinde varlığı ile alakalı kayıt bulunmamaktadır. 2001 yılında Rusya'nın Karadeniz kıyılarında Soçi'de rapor edilmiş, ardından 2015 yılında Türkiye ve Gürcistan'dan eş zamanlı olarak yeniden rapor edilmiştir (Ganushkina vd., 2012; Akıner vd., 2016; Ganushkina vd., 2016).

Türkiye'de *Ae. aegypti* yirminci yüzyılın ikinci çeyreğinde Karadeniz, Akdeniz bölgelerinde varlığı bilinmektedir (Merdivenci, 1984). Ancak 1950'li yıllardan sonra türün *Anopheles* türlerinin neden olduğu sıtma ile mücadele sonucunda ortadan kalktığı düşünülmektedir. Her ne kadar zaman zaman rastlantısal olarak 1961, 1984, 1992, 1993 ve 2001 yıllarında türle alakalı kayıtlar olsa da türün yerleşik popülasyonları 2014 yılında Türkiye'nin Karadeniz kıyılarında Artvin, Rize ve Trabzon illerinde belirlenmiş ve türün varlığı hala bu bölgelerde devam etmektedir. (Schaffner ve Mathis, 2014; Akıner vd., 2016; Demirci vd. 2021a).

Bu iki türün yerleşik popülasyonları, sivrisinek kaynaklı yeni hastalıkların bölgeye girmesine veya mevcut hastalık potansiyelinin artmasına neden olması muhtemel bir durumdur. Sivrisinek kaynaklı Batı Nil virüsü (WNV) Türkiye'de 1970'li yıllardan beri bilinmekte olup, Türkiye'nin farklı bölgelerinde eşek-katır, at, sığır, köpek, koyun ve insan vakaları tespit edilmiştir. Ayrıca virüs varlığı *Culex pipiens* s.s. (Linnaeus, 1758), *Ae. caspius* (Pallas, 1771), *Cx. quinquefasciatus* (Say, 1823), *Cx. perexiguus* (Theobald, 1903) ve son zamanlarda Türkiye'nin farklı yerlerinde *Ae. albopictus* türlerinde tespit edilmiştir. (Meco, 1977; Özkul vd., 2006; Ergunay vd.,

2010a; Ergunay vd., 2010b; Ergunay vd., 2010c; Kalaycıoğlu vd., 2012; Yazıcı vd., 2012; Failloux vd., 2017; Akıner vd., 2019). Diğer taraftan deng humması 1889 ile 1945 yılları arasında ölkemizde İzmir'de (dört kez), Manisa'da (bir kez), Antalya'da (bir kez), Çanakkale'de (bir kez), İstanbul'da (iki kez), Trabzon'da (iki kez) olmak üzere toplamda on bir kez görölmüştür. Dahası 1927-28 yılları arasında Türkiye ve Yunanistan'ı içeren büyük salgınlar gözlenmiştir (Schaffner ve Mathis, 2014). Bugüne kadar, Türkiye'de YFV, CHIKV veya ZIKV'nin yerli bulaşmasından kaynaklanan hiçbir insan enfeksiyonu kaydedilmemiştir. Bununla birlikte, yakın tarihlerde DENV veya antijenle ilişkili flavivirüslere sporadik maruziyetin yanı sıra ithal CHIKV ve ZIKV vakalarının serolojik kanıtları bildirilmiştir (Ergunay vd., 2007; Ergunay vd., 2010c; Ergunay vd., 2010d; Akıner vd., 2019).

Bu iki istilacı tür günümüzde Türkiye'deki varlıkları halen devam etmekte olup türlerle alakalı çalışmalar sınırlıdır. Bu çalışmalar, türlerin Türkiye'deki ilk kayıtları, dağılım alanlarının belirlenmesi ve türlerin vektörlük durumlarının incelenmesini kapsamaktadır. Bunun yanında sadece *Ae. albopictus* türü için Ege bölgesine ait insektisit direnci ve Marmara bölgesinde Düzce ili için ilk kayıtları içeren ve türün coğrafi olarak morfometik analizlerini içermektedir (Öter vd.,2013; Akıner vd., 2016, Akıner vd., 2018; Ali ve Öztemiz, 2021; Demirci vd., 2021a; Demirci vd., 2021b; Yavaşoğlu, 2021). Bu çalışmalar dışında Türkiye'de bu türlerle alakalı çalışmalar sınırlıdır ve bu türlerin kökenleri ve istila yolları hakkında gerekli çalışmalar yeterli kadar araştırılmamıştır. Literatürde bu türlerin Türkiye'deki kökenleri ile alakalı bazı yayınlar yer alsa da bu yayınlar az örnek sayısı içermekte ya da ölkenin tamamını içeren bir çalışma hali hazırda bulunmamaktadır (Sherpa vd. 2019; Kotsakiozi vd., 2018). Bunun yanında türlerin olası hastalık etmenlerini taşıyıp taşımadıkları güncel olarak takip edilmesi olası hastalık risklerini geniş alanlara yayılmadan önlenmesinde önem arz etmektedir. Her ne kadar bu türlerin olası hastalık etmenlerini taşıyıp taşımadıkları daha önceden belirlenmiş olsa da bu bilgiler güncellenmelidir.

Yapılan bu tez çalışmasında ölkemize 2015 yılında yerleşik popölasyonları belirlenmiş olan bu türlerin vektörlük durumları araştırılarak bu türlerin ölkemiz için hali hazırda bir risk oluşturup oluşturmadıkları belirlenmeye çalışılmıştır. Buna ek olarak türlerin ölkemizdeki mevcut dağılım alanları belirlenerek ölkemizdeki risk alanları tayin edilmeye çalışılmıştır. *Ae. albopictus* ölkemizde 2011 yılında Trakya'da,

2015 yılında ise Karadeniz bölgesinin doğusunda ve 2018 yılında ise Ege bölgesinde İzmir ilinde belirlenmiştir. Bu çalışma ile *Ae. albopictus*'un ülkemize çoklu istila şeklinde mi giriş yaptığı yoksa tek noktadan giriş yaparak mı diğer bölgelere yayıldığı belirlenmeye çalışılmıştır. *Ae. aegypti* için ise türün kalıntı tür mü yoksa yeni istila mı olduğu test edilerek ve türlerin olası kökeni ve durumu hakkında fikir elde edilmiştir. Türün olası kökeninin belirlenmesi ile türün ekolojik, biyolojik ve fizyolojik özellikleri hakkında bilgiler sağlayarak ülkemizde mücadelesi, yayılım alanlarının öngörülmesi, olası böcek ilacı direnci, çevreye karşı uyum ve hastalık yayma potansiyeli gibi özelliklerinin ortaya çıkarılmasında önemlidir.



1. GENEL BİLGİLER

Sivrisineklerin hem insanlardan kan emme yoluyla verdiği rahatsızlık hem de neden oldukları hastalıklardan dolayı insan hayatındaki olumsuz etkileri tartışmasız bir hal almıştır (Saldaña vd., 2017). Sivrisinek kaynaklı hastalıklar her yıl milyonlarca insanın ölümüne, binlerce kişinin bu hastalıklardan acı çekmesine neden olmaktadır. Bunun yanında hem bu hastalıkların tedavisi hem de sivrisineklerle yapılan mücadele ciddi ekonomik kayıplara neden olmaktadır (Jain and Kumar, 2018). Sivrisinekler, başta en fazla bilinen sivrisinek kaynaklı hastalık olan sıtma olmak üzere, sarıhumma, deng humması, chikungunya, ensefalit, filaryaz gibi insanoğlunun bildiği en ölümcül hastalıkların taşıyıcılarıdır. Dünya genelinde yapılan kapsamlı sivrisinek mücadelesine karşı pek çok hastalık halk sağlığı sorunu olmaya devam etmektedir. Bunun yanında pek çok sivrisinek türü dünyadaki artan ulaşım ağı ve ticaretle birlikte dağılım alanlarını genişletmektedir. Buna bağlı olarak bu sivrisinek türlerinin neden oldukları hastalıklar daha önce görüldükleri alanların sınırlarını aşarak yeni bölgelerde görülmeye başlamıştır (Maynard vd., 2023).

Sivrisinekler Insecta (böcekler) sınıfı ve Diptera (iki kanatlılar) takımı Nematocera alt takımı, Culicidae familyası içerisinde yer alır. Culicidae familyası içerisinde Anophelinae ve Culicinae alt familyaları vektörel açıdan önemli sivrisinekleri içerisinde barındırmaktadır (Eldridge, 2005). Dünya genelinde Culicinae alt familyasına ait 108 cins ve 3500'den fazla türün varlığı bilinmektedir (Becker vd., 2019). Bu türler arasında dünya genelinde en fazla bilinen ve en fazla vektörel öneme sahip olan *Anopheles*, *Culex*, *Aedes* cinsleridir (Saldaña, vd., 2017).

Sivrisinekler tam başkalaşım geçiren (Holometabol) böceklerdir. Sivrisineklerde bağlı buldukları familyanın karakteristik özelliği olan kan emme davranışı gözlenmekte olup kan emme davranışı yalnızca dişi bireylerde görülmektedir. Kan emme davranışı yumurta bırakan dişi bireylerin gerek duydukları protein ve diğer besinlere olan ihtiyacını karşılamaya yöneliktir. Diğer yandan bazı sivrisinek türlerinde kan emmeden yumurtlama davranışı görülebilmektedir (Smith ve Fonseca, 2004). Özellikle ergin diapoza görülen sivrisineklerde de kan emme davranışında artış olabilmektedir. Hem dişi bireyler hem de erkek bireyler ana besin maddesi olarak bitkilerin çiçek ve meyvelerinin nektarlarını karbonhidrat kaynağı

olarak kullanılmaktadır. Kan emen dişi bireyler hava sıcaklığına bağlı olarak yaklaşık 2-3 gün emdikleri kanı sindirir. Kanı sindiren dişi bireyler sivrisineğin cinsine, türüne, türün morfolojik yapısına, emdikleri kanın miktarına vb. göre farklılık gösteren miktarlarda yumurta bırakır. Bırakılan yumurtaların şekli, bırakılma biçimi, türlere göre farklılık göstermektedir. Örneğin *Culex* cinsi sivrisinekler yumurtalarının toplu şekilde (sal şeklinde) su yüzeyine bırakırken *Aedes* cinsi sivrisinekler yumurtalarını tek tek ve su kıyısındaki alanlara yapıştırarak bırakır. Pek çok sivrisineğin yumurtalarını bırakma alanları cinse göre farklılık gösterebilmektedir. Örneğin *Anopheles* cinsi sivrisinekler yumurtalarını daha temiz sulara bırakmayı tercih ederken *Culex* ve *Aedes* cinsi sivrisinekler yumurtalarını genellikle bakteri ve polenlerin yoğun olduğu bulanık suları tercih ederler. Yumurtalar kısa süre içerisinde açılarak su içerisinde serbest halde yüzerler. Su içerisinde buldukları bitki ve hayvan kalıntıları, bakteri ve diğer canlılarla beslenirler. Suyun besin içeriği larva gelişimi açısından önemli olup besin içeriği fazla olan sularda larva gelişim daha hızlı olurken aşırı kirli sular larvaların ölümlerine neden olabilmektedir. Larval gelişim 4 evrede tamamlanır ve bu dört evrenin tamamında larvalar gömlek deriştirirler. Gömleğin morfolojik yapısı larvanın morfolojik yapısı ile birebir aynıdır ve bu gömlekler türlerin ayrımında kullanılabilir. Sivrisinekler dört larva dönemi geçirdikten sonra pupa safhasına girerler. Sivrisinek pupalarının gelişebilmesi için 2-4 gün süreye ihtiyaç vardır. Pupalarda iç basıncı artırmak amacıyla hava yutarlar ve iki gün sonra da pupayı delerek dışarı çıkan erişkin bireyler meydana gelir. Bazı türler bir kez, bazı türler ise 2-3 kez yumurtladıktan sonra ölürlür. Sivrisineklerin yaşam süresi, Türkiye gibi ılıman iklim kuşağına sahip bölgelerde, yeterince kan emebilme, iklim, sıcaklık gibi faktörlere bağlı olarak bir ay kadardır. Bu süre tropikal bölgelerde 6 aya kadar uzayabilmektedir (Merdivenci, 1984; Özcel ve Daldal, 1997; Alten ve Çağlar, 1998; Genchi vd., 2007; Becker vd., 2019).

Aedes cinsinin üyeleri kahverengimsi ve siyahımsı arasında değişen vücut örtülerinin üzerine beyaz desenlerle karakterize edilir. *Aedes* cinsi türleri dünya çapında bir dağılıma sahip olmasına rağmen tür düzeyindeki çeşitlilik ve yoğunluklarına göre Oryantal ve Avustralya Bölgelerinde en iyi temsil edilir (Reinert vd., 2004). Bu cins 40'tan fazla alt cinsten oluşmakla beraber *Aedes*, *Aedimorphus*, *Fredwardsius* ve *Stegomyia* alt cinslerine ait türler Avrupa'da ve ülkemizde

görülmektedir. Diğer yandan bu cinse ait türlerin bazıları yalnızca tropikal Neotropik, Afrotropikal, ve/veya Avustralya bölgelerinde bulunmaktadır. Bu cinse ait sivrisinekler dünya genelinde hastalık taşıma açısından en önemli türleri içerisinde barındırmaktadır (Becker vd., 2019). Bu cinse ait *Stegomyia* alt cinsi içerisinde yer alan ve ülkemizde ve Avrupa’da bilinen *Ae. albopictus* ve *Ae. aegypti* en fazla bilinen iki türdür.

Ae. albopictus (Skuse, 1984) ve *Ae. aegypti* (Linneaus, 1762) türleri Culicidae familyası *Aedes* cinsi ve *Stegomyia* altcinsine ait olan sivrisinek türleridir. Her iki türün erginleri de göreceli olarak küçüktürler ve bacaklarda ve vücudun diğer kısımlarında siyah zemin üstünde meydana gelmiş beyaz/gümüş pullanmalardan dolayı siyah ve beyaz örüntü gösterirler (Schaffner vd., 2001). Bu iki türün erginleri ilk bakışta çok benzer morfolojik özellikler gösterse de skutumda farklı pullanma göstermeleriyle kolayca ayrılabilirler. *Ae. albopictus* erginlerinin skutumunun tam ortasında gümüş renkli çizgi şeklinde bir pullanma kendini gösterirken, *Ae. aegypti* erginlerinin skutumundaki gümüş pullanmalar ise lir şeklinde yerleşme göstermektedir (Şekil 1 ve Şekil 2) (Le Goff vd., 2013). Diğer taraftan bu iki tür morfolojisi bakımından yerli *Ae. cretinus* ve şimdiye kadar ülkemizde belirlenmemiş olan başka bir istilacı tür olan *Ae. japonicus* ile benzerlik göstermesi bakımından karıştırılabilmektedir (ECDC, 2021).



Şekil 1. *Ae. albopictus* ergininin görüntüsü



Şekil 2. *Ae. aegypti* erginini görüntüsü

Asya kaplan sivrisineği olarak da bilinen *Ae. albopictus* hem tıbbi hem de veterinerlik açısından önemi olan istilacı ve zararlı bir türdür (Hawley, 1988). İlk olarak 1894 yılında Skuse tarafından Hindistan Kalküta'da toplanan örneklerden tanımlanan tür ve *Stegomyia* alt cinsinin bir üyesidir (Reinert vd., 2004). Tür bacaklarında beyaz bantlar, koyu renkli bir hortum ve koyu pullu kanatları olan küçük ila orta boy bir sivrisinektir. Türün diğer *Stegomyia* alt genusu üyelerinden scutum'un orta noktasında beyaz pullardan oluşan şerit, beyaz pullu dokungaç (palp) ve clypeus da pulları olmaması ile karakterize edilir. Erkeklerde dişilere göre daha küçük boyutta olması ve tüylü antenler ile dişilerden ayrılır.

Ae. albopictus'un ortalama yaşam ömrü bölgesel olarak değişkenlik göstermekle birlikte yapılan araştırmalarda doğal ortamda dişilerin yaklaşık olarak 8-24 gün arasında erkeklerin ise yaklaşık 1-24 günlük bir ömürlerinin olduğu belirlenmiştir. Laboratuvar koşullarında yapılan çalışmalarda 25°C'de ve % 70 bağıl nemde maksimum yaşam süresi dişiler için 60 gün ve erkekler için 48 gündür (Bellini vd., 2010; Hawley, 1988, Gubler vd., 1970).

Türün geçmişte Asya kıtasında doğuda Güneydoğu Asya'nın tropik ve subtropikal bölgelerinde, Pasifik'ten ve Hint Okyanusu Adaları'nın çoğundan, kuzeyden Çin ve Japonya'ya, batıdan Madagaskar'a olan bölge içerisinde dağılım gösterdiği bilinmektedir (Scholte ve Schaffner, 2007). Orijinal türün ormanlık alan orjinli olduğu ve bölge ormanlarında bulunan maymun ve diğer yerel hayvanlar üzerinden beslendiği düşünülmektedir (Paupy vd., 2001). Türün ormanlık alanlarda

insanlara saldırmasından dolayı türe bölge halkı arasında aynı zamanda “Orman sivrisineği” de denilmektedir (Scholte ve Schaffner, 2007). *Ae. albopictus*, Güneydoğu Asya'da geniş bir doğal coğrafi dağılıma sahiptir. Günümüzde ise bu tür ağırlıklı olarak Asya'nın kırsal ve yarı kırsal alanlarında bulunmakla beraber, Kuala Lumpur, Singapur ve Tokyo gibi vejetasyonun yoğun olduğu alanlarda da yüksek oranlarda bulunduğu bildirilmiştir (Hawley, 1988). Türün Asya kıtasında iki farklı soyu bilinmektedir bunlar Pekin, Çin ve Honshu, Japonya gibi ılıman kuzey ortamlarına uyum sağlamış ılıman soy ve Malezya, Hindistan ve Sri Lanka'daki güney tropikal koşullarına uyum sağlamış tropikal soydur (Hawley, 1988). Bu soylar yumurta diyapozu, konak tercihleri, biyolojik ve iklimsel uyum açısından farklılık göstermektedirler (Kamgang vd., 2011; Žitko vd., 2011; Ruiling vd., 2018).

Ae. albopictus küresel istilacı türler veri tabanına göre en tehlikeli 100 yayılımcı tür arasında 4. olarak listelenmiş bir türdür (Van Gompel ve Van Bortel, 2008). Türün bu listede en yüksek yayılımı gösteren böcek türü olması, yeni yerleri istila etme kapasitesinin ne kadar yüksek olduğunun bir göstergesidir. Bu türün bu kadar kolay yayılabilmesi türün biyolojik özelliklerinden kaynaklanmaktadır. *Ae. albopictus*'un *Ae. aegypti*'ye göre daha uzak kuzey bölgelere yayılım gösterdiği tespit edilmiştir. Bu iki tür arasındaki en önemli farklılık olan *Ae. albopictus*'un ılıman bölgelerde kış mevsimi sırasında dormant (uyku hali) konuma geçerek düşük sıcaklıklara adapte olma yeteneğinin var olması, bu yayılımın en önemli sebeplerinden birisidir. Japonya ve Amerika'da *Ae. albopictus* kolonileri üzerinde yapılan iklimsel alan ve laboratuvar çalışmaları, bu türün kesintisiz üreyebilme kapasitesine sahip olduğunu ve Japonya'da ortalama 10°C ve Amerika'da ise -5°C'de hayatta kalabildiklerini göstermiştir (Mitchell, 1995; Kobayashi vd., 2002; Delatte vd., 2009). Ayrıca sıcaklık 0°C altına düştüğünde türün yumurtaları da dormant konuma geçmektedirler (Mitchell, 1995). Türün çok düşük sıcaklıklara dayanabilmesinin nedeninin düşük sıcaklıklarda yüksek miktarlarda yağ sentezleme ve yine yüksek miktarlarda yumurta yağı üretebilme yetenekleriyle büyük ölçüde bağlantılı olduğu bulunmuştur (Paupy vd., 2009). *Ae. albopictus*'da larval lipogenesisin *Ae. aegypti*'ye göre daha fazla olduğu da tespit edilmiştir ki bu da türün daha uzak kuzey bölgelere yayılabilmesini de kısmen açıklayabilmektedir (Briegel ve Timmermann, 2001).

Ae. albopictus çok çeşitli ekolojik özellikler gösteren habitatlara hızlı adapte olmasını sağlayan güçlü ekolojik plastisite gösterir. Türün Asya ormanları orjinli olmasına rağmen şu anda orijininin çok farklı habitatlarda hızlı bir şekilde kolonileşebilmesi bunun en büyük kanıtıdır. Türün larval üreme alanları çok geniştir ve bambu çubukları, Bromeliaceae familyasına ait bitkiler ve ağaç delikleri gibi doğal habitatların yanı sıra, su depolama konteynırları, eski araba lastikleri gibi birçok da doğal olmayan habitatları içerir (Hawley, 1988). Tür mevsimsel, bölgesel, konak bulunabilirliği ve insan habitatlarının doğal yapısı gibi çeşitli nedenlerden kaynaklanan bazı istisnai durumlar dışında, genel olarak özellikle sabah erken saatlerde ve öğleden sonra geç saatlerde beslenmeyi tercih eden oldukça agresif, gündüzcül ve dışarıda beslenen bir türdür (Paupy vd., 2009). Tür aynı gonotrofik döngü içerisinde birden fazla konaktan beslenebilir. Tür konak olarak genellikle memelileri tercih etmesine rağmen kuşları, sürüngen ve amfibileri de içeren çok çeşitli sıcak ve soğukkanlı hayvanları da tercih ettiği tespit edilmiştir (Scholte ve Schaffner, 2007). Türün fırsatçı ve zoofilik beslenme davranışı genel olarak insan patojenleri için zayıf bir vektör olduğunu düşündürse de insan konağına karşı hayvan konağını tercih etmesinin sivrisinek popülasyonunun coğrafik orijinine göre oldukça değişkenlik gösterdiği, insan ve hayvan tuzakları arasında seçme şansı verildiğinde insanları tercih ettikleri gözlenmiştir (Richards vd., 2006; Niebylski vd., 1994). Ayrıca *Ae. albopictus* 'un çok çeşitli konaklar üzerinden beslenmesi doğurganlık (fekundite) ve hayatta kalma gibi biyolojik özelliklerini güçlendirirken aynı zamanda zoonotik patojenlerin hayvandan hayvana ve hayvandan insana bulaşım riskini de arttırmaktadır (Paupy vd., 2009). Bu geniş konak tercihi aynı zamanda da türün farklı konakları bulunduran habitatları kolayca işgal etmesine de yardımcı olmaktadır.

Türün erken dönem yayılımında Güneydoğu Asya'dan Hint-Malayan Yarımadası'na ve Hint Okyanusu adalarına doğru ilk hareketi, 17. ve 18. yüzyıllarda uluslararası ticaretle insan göçündeki artıştan kaynaklanmış olabileceği düşünülmektedir (Paupy vd., 2009; Maynard vd., 2017). *Ae. albopictus*'un yayılımın insan aktiviteleriyle olan ilişkisini, araç lastiklerinin gemi naklieleriyle kıtalar arası taşınması sebebiyle türün 1985 yılında Amerika'ya giriş yapması oldukça açık şekilde göstermiştir (Reiter ve Sprenger, 1987). Günümüzde *Ae. albopictus*, Amerika'dan Arjantin'e kadar birçok Amerika ülkesinde, Hawaii, Solomon ve Fiji gibi çok sayıda

Pasifik adasında ve Avustralya'da bulunmaktadır (Paupy vd., 2009). Tür Afrika'da ilk kez 1989 yılında Güney Afrika'da ve daha sonra da Nijerya, Kamerun, Ekvatoryal Gine ve Gabon'da tespit edilmiştir (Paupy vd., 2009).

Avrupa'da iki farklı *Ae. albopictus* istilasası bilinir: 1979'da Arnavutluk (Adhami and Murati, 1987) ve 1990'da İtalya (Sabatini vd., 1990; Dalla Pozza and Majori, 1992). Tür, 1990'lı yıllardan itibaren Bosna-Hersek, Hırvatistan, Belçika, Yunanistan, Karadağ, Fransa, İtalya, Hollanda, Sırbistan, Slovenya, İspanya ve İsviçre, Bulgaristan, Almanya, San Marino, Malta, Monaco, Gürcistan ve Vatikan gibi diğer ülkelerde rapor edilmiştir (Scholte ve Schaffner, 2007; Gatt vd., 2009; Petric, 2009). Günümüzde tür çeşitli yollardan neredeyse tüm Avrupa'yı işgal etmiştir (Sherpa vd., 2019, Konorov vd., 2021). Bu tür daha önce Türkiye çevresinde Balkanlar ve Kafkaslarda kaydedilmiştir (Samanidou-Voyadjoglou vd., 2005, Giatropoulos vd., 2012; Konorov vd., 2021). Balkanlar'da, *Ae. albopictus* ilk kez 2005 yılında kuzeybatı Yunanistan'da rapor edilmiş ve en olası istila yolunun Arnavutluk ve/veya İtalya'dan Yunanistan'a giden feribot trafiğinden sorumlu olduğu düşünülmektedir (Samanidou-Voyadjoglou vd., 2005; Giatropoulos vd., 2012). *Ae. albopictus*'un Bulgaristan'daki varlığı 2005'ten önce bilinmesine rağmen ilk olarak 2011'de bir bilimsel toplantıda rapor edilmiştir (Samanidou-Voyadjoglou vd., 2005, Öter vd., 2013). Tür Kafkasya'da ilk olarak 2011 yılında Sochi/Rusya'da (Kuzey Kafkasya) tespit edilmiştir (Ganushkina vd., 2012). Sonraki birkaç yıl içinde neredeyse tüm Batı Karadeniz kıyılarında rapor edilmiş ve sonunda 2015'te Gürcistan ve Türkiye'de tespit edilmiştir (Akıner vd., 2016; Konorov vd., 2021).

Avrupa'da, *Ae. albopictus*'un iki farklı iklimsel soyu mevcuttur: Amerika kökenli ılıman iklimli Japon soyundan gelen İtalya soyu ve Çin soyundan gelen Arnavut soyu (Kamgang vd., 2011; Žitko vd., 2011; Ruiling vd., 2018).

Türkiye'de ise ilk defa Öter vd. (2013) tarafından 2011 yılında yapılan çalışmada Türkiye-Yunanistan sınırı yakınlarında türün yumurtalarına ve larvalarına rastlanmıştır. Ancak bu çalışmadan sonraki dönemlerde araştırma yapılmasına rağmen alanda yerleşik popülasyonlara rastlanmamıştır (Öter vd., 2013). 2015 yılında yapılan çalışma neticesinde ülkemizin kuzeydoğu sınır hattından (Artvin Sarp) itibaren Giresun hattına kadar yayıldıkları, yerleşik popülasyonlar oluşturdukları belirlenmiştir. (Akıner vd., 2016). İlk yıllarda türle mücadele başlatılmış ve yerleşik

popülasyon oluşturdıkları Artvin, Rize ve Trabzon'da türle uçkun ve larval mücadele başlatılmıştır (Akıner vd., 2018). 2019 yılında türün vektörlük durumları araştırılmış ve türün Batı Nil virüsü, *Ae. filavivirus* ve Cell fusing agent virüslerini taşıdıkları belirlenmiştir (Akıner vd., 2019).

Önceki genetik araştırmalar, Yunan soyunun kökeninin orta İtalya ve Arnavutluk soyları arasındaki bir karışım olduğunu ve Doğu Karadeniz bölgesindeki *Ae. albopictus* popülasyonlarının kökeninin kuzey İtalya soyundan köken aldığı belirlenmiştir (Sherpa vd., 2019). 2021 yılında türün yayılım alanlarının içeren çalışmalar yapılmış ve çalışmalarda türün Marmara, Karadeniz sahil hattı ve Ege bölgesinde dağıldığı belirlenmiştir (Ali ve Öztemiz, 2021; Demirci vd., 2021a). Türkiye'den morfometrik analiz kullanılarak yapılan önceki çalışmada, Aliğa limanı (Ege) popülasyonunun Karadeniz ve Marmara popülasyonlarından ayrı olduğu belirlenmiştir (Demirci vd., 2021b).

Ae. aegypti, geleneksel olarak "Sarihumma sivrisineği" olarak bilinir. Türün anavatanı Afrika kıtasıdır. Türün ilk olarak Amerika kıtasına köle ticareti yoluyla giriş yaptığı bilinmektedir. 1950'lere geldiğinde, tür hemen hemen tüm Akdeniz ülkelerinde ve hem kıyı hem de iç bölgeleri kapsayan Karadeniz çevresinde ve doğuda Hazar Denizi'ne (Portekiz, İspanya, eski Yugoslavya, Yunanistan, Ukrayna, Türkiye, Fransa, İngiltere ve Rusya) yerleşmiştir (Mitchel, 1995). Ancak geçmiş kayıtlarda türün hiçbir zaman 44° 30' kuzey enleminin kuzeyine yerleşmemiştir. Bu durumun sebebi türün kış durgunluğunun görülmemesidir (Schaffner ve Mathis, 2014). Bu nedenle türün 50° kuzey ve 50° güney enlemleri arasında yayılım gösterebileceği öngörülmektedir (Nelson, 1986). 1950'lerden sonra *Ae. aegypti*, Akdeniz bölgesinden kaybolmuştur. Bu ortadan kaybolma, sıtma bulaştıran Anopheles türlerini hedefleyen DDT kullanımının, Yunanistan da ortaya çıkan deng salgınına karşı yapılan vektör kontrol önlemleri, daha soğuk kışların ve belki de daha da önemlisi sanitasyondaki, özellikle iç mekân tesisatındaki gelişmelerin bir kombinasyonu olduğu düşünülmektedir (Kotsakiozi vd., 2018). Ancak 1960 ve 2000 yılları arasında, tür bir kez İtalya'da (1972), İsrail'de (1974) görülürken 5 kez Türkiye'de (1961, 1984, 1992, 1993, 2001) raslantısal olarak belirlenmiş ancak tür yerleşik popülasyonlar oluşturmadığı belirlenmiştir (Mitchel, 1995; Schaffner ve Mathis, 2014). 50 yıllık bir aradan sonra, 2001 yılında Rusya'nın Soçi bölgesinde ve ardından 2005 yılında

Portekiz'in Madeira adasında tespit edilmiştir (Margarita vd., 2006). 2008 yılına gelindiğinde, Gürcistan, Rusya ve 2015 yılında Türkiye'den bildirilen popülasyonlarla Karadeniz'in doğu kıyısını tamamen işgal etmiştir (Riabova vd., 2005; Almeida vd., 2007; Yunicheva vd., 2008; Akıner vd., 2016; Ganushkina vd., 2016).

Günümüzde *Ae. aegypti* Afrika kıtası dahil olmak üzere tropik bölgelerde ve güneydoğu Amerika Birleşik Devletleri, Orta Doğu, Güneydoğu Asya, Pasifik ve Kuzey Avustralya'nın Hint Adaları gibi tropikal bölgede dağılmaktadır. Avrupa kıtasında ise Portekiz Madeira adası hariç Anakara'da Doğu Karadeniz bölgesinde yerleşik popülasyonları bulunmaktadır. Ayrıca türün 2022 yılında Güney Kıbrıs'ta yerleşik popülasyonlar oluşturduğu tespit edilmiştir (Soumahoro vd., 2010; ECDC, 2023; Marlen I Vazquez bireysel görüşme).

Ae. aegypti'nin beslenme davranışı, larval habitat ve erginler bireylerde vücut renklenmelerine göre üç farklı biyotipi bilinmektedir. Bu biyotipler tipik olarak bilinen *Ae. aegypti aegypti*, *Ae. aegypti queenslandensis* ve *Ae. aegypti formosus*'dur. Bu formlardan *Ae. aegypti aegypti*, ve *Ae. aegypti queenslandensis* Afrika kıtasından ilk olarak Amerika, sonrasında ise Avrupa kıtasına yayılan iki biyotiptir (Nelson, 1986).

Ae. aegypti aegypti formu ilk olarak 15. Yüzyılda Afrika kıtasına giden Avrupalılar tarafından basta Avrupa olmak üzere dünyanın çeşitli yerlerine dağılmıştır. Günümüzde en geniş coğrafi dağılıma sahip biyotiptir (Kraemer vd., 2015) Formun geniş olanlara yayılması aynı zamanda deng humması, chikungunya, zika ve kentsel sarı humma gibi arbovirüslerin ana vektörü olarak kabul edilmesine neden olmuştur. Biotipin vektörel öneminin fazla olması biotipin yaşam alanı olarak kapalı alanları özellikle ev içlerini tercih etmesinin önemi büyüktür. Biyotip soluk veya kahverengimsi renklenme ile karakterize edilir (Soghigian vd., 2020; Fonseca Júnior vd., 2019).

Ae. aegypti formosus, Afrika kıtasında bulunan biyotiptir. Bu biyotip aynı zamanda diğer biyotiplerin atası olarak kabul edilir. Form günümüzde yumurtalarının ağaç kovuklarında bulunduğu ve dişilerinin insan olmayan memelilerden kan emmeyi tercih ettiği Sahra-altı Afrika'daki tropik ormanlarda hala ürer (Schaffner ve Mathis, 2014). İlk olarak Sierra Leone'de tanımlanmış, ancak doğu ve güney Sahra altı Afrika'daki ormanlık bölgelerde de rapor edilmiştir. Abdominal pullarının koyu kahverengi ile siyah olmaması ile karakterize edilir. (Mori vd., 2016; Rašić vd., 2016).

Ae. aegypti queenslandensis (Theobald, 1901), ilk olarak Burpengary, Queensland, Avustralya'da tanımlanmıştır. Ancak biyotip Asya, Okyanusya, Avrupa ve Kuzey Afrika, Akdeniz bölgesinde de yayılım göstermektedir (Mori vd., 2016; Rašić vd., 2016).

Ae. aegypti genellikle insanla yakın ilişki içinde kentsel ve yarı kentsel ortamlarda bulunur. Dişi *Ae. aegypti*, diğer hayvanlar mevcut olduğunda bile genellikle oldukça antropofiliktir, ancak diğer memeliler ve kuşlarla beslendikleri bilinmektedir. Dişiler beslenmek için evlere kolayca girerler. Yetişkinler, kanla beslenen konağın yakınında çiftleşirler ve kaynak bulmak için gerekenden daha uzağa uçmazlar (Turell vd., 2005; Reiter, 2010; Dieng vd., 2012; Ong vd., 2021).

Ae. aegypti tipki *Ae. albopictus* gibi yumurtalarını yumurta bırakma alanlarının kenarına bırakır. Yumurtalar haftalarca susuz ortamda kalabilmektedir (Juliano ve Philip Lounibos, 2005). Doğal alanlarda *Ae. aegypti* yumurtalarının türler ağaç deliklerinde, çürümüş ağaç kütüklerine ve kaya kovuklarına bırakırken, kentsel habitatlara uyum sağlamasıyla yumurtlama alanlarını vazolar, su tankları ve kullanılmış araba lastikleri gibi insan habitatlarıyla bağlantılı doğal veya yapay kaplara alanlara bırakırlar (Jansen ve Beebe, 2010; Weaver ve Reisen, 2010). Türün ayrıca septik tanklar gibi yeraltı su habitatlarını da etkili bir şekilde kullandığı ve aynı bölgedeki hem kapalı hem de açık alan yumurtlama habitatlarını kullanmaya adapte olduğu bulunmuştur (Barrera vd., 2008).

Ae. aegypti, hem dinlenme, hem de konak bulunabilirliği açısından insan habitatlarını tercih ettiği için, insanların yaşam alanları olan evlerde oldukça fazla bulunmaktadır (Reiter, 2010; Jansen ve Beebe, 2010; Weaver ve Reisen, 2010). Tür, *Ae. albopictus* gibi gündüzcül ve genel olarak sabah erken saatlerde ve öğleden sonra geç saatlerde beslenmeyi tercih eden bir tür olmasına rağmen, onun gibi sadece dışarıda beslenen bir tür değildir. Ayrıca *Ae. albopictus* kadar da agresif saldırgan davranış sergilemez (Jansen ve Beebe, 2010; Turell vd., 2005).

Deng humması, döngüsünü sivrisinekler ve insanlar arasında sürdüren ve Flavivirus familyasına ait deng virusünün herhangi dört serotipinin (DENV-1-4) neden olduğu sivrisinek kaynaklı bir hastalıktır. Bu serotiplerden herhangi birisiyle enfekte olmak diğer serotipler için bağışıklık kazandırmaz, dolayısıyla deng endemik bir alanda yaşayan insanlar hayatları boyunca bu dört serotipin hepsiyle hastalık

kapabilirler (Gubler ve Clark, 1995). Deng humması için birincil vektör *Ae. aegypti* türü sivrisinek olmasına rağmen *Ae. albopictus* 'ta deng humması için çok önemli bir vektördür (Rezza vd., 2007, Moutailler vd., 2009). Hastalık ilk defa 1779-1780 yıllarında Asya, Afrika ve Kuzey Amerika'daki salgınlarla rapor edilmiştir. Dünya'da deng hummasının yayılışı son yıllarda ciddi şekilde artmıştır. Bu hastalık tüm dünyada 2,5 milyardan fazla insanı tehdit ederken her yıl 50 milyon insanın enfekte olmasına sebep olmaktadır. Günümüzde *Ae. aegypti* kaynaklı geniş çaplı deng humması epidemileri Amerika, Güneydoğu Asya ve Batı Pasifikde kendini gösterirken, 100 den fazla ülkede endemiktir. 2012 yılında Portekiz otonom bölgesi olan Madeira'da *Ae. aegypti* kaynaklı büyük bir salgın meydana gelmiştir (Sousa vd., 2012). Salgın 2012 yılı Ekim ayında başlamış 2013 yılı Ocak ayına kadar 2000 den fazla vakaya sebep olmuştur (ECDC, 2013). Ayrıca adadan dönen Avrupa'lı 78 turiste de hastalık tespit edilmiştir (ECDC, 2013). 1977-1978 yıllarında Reunion Adası'nda ve 2001-2002 yıllarında Hawaii Adası'nda *Ae. albopictus* kaynaklı deng humması epidemileri meydana gelmiştir (Effler vd., 2005). Ayrıca 2004 yılında Reunion Adası'nda tekrar bir salgın olmuş ve 2009 yılında da Mauritius'da en az 220 vakaya sebep olan *Ae. albopictus* kaynaklı salgınlar bildirilmiştir (Ramchurn vd., 2009; ECDC, 2013).

Sarihumma virüsü de Flavivirüs familyasına aittir ve önemli ölüm oranlarıyla sonuçlanan viral kanamalı ateşe sebep olur. Sarihumma için de tıpkı deng hummasında olduğu gibi birincil vektör *Ae. aegypti* türü sivrisinek olmasına rağmen *Ae. albopictus*'ta deng humması için çok önemli bir vektördür (Rezza vd., 2007, Moutailler vd., 2009). Hastalıkta ölüm oranları % 20-50 arasında değişmektedir (Monath ve Cetron, 2002). Hastalık Afrika ve Orta/Güney Amerika'da görülmektedir (Barret ve Higgs, 2007). Geçmişte Avrupa'da ve Kuzey Amerika'da geniş salgınlar gözlenmiştir ve 20. yüzyılın ortalarından sonra tüm Akdeniz bölgesinde ortadan kaybolmuştur (Reiter, 2010). Ancak yakın zamanda Almanya, Belçika, İspanya, Fransa, Hollanda ve İsviçre'den (Monath ve Cetron, 2002; Kiehl, 1999; Colebunders, 2001) dış kaynaklı vakalar bildirilmiştir.

Chikungunya hastalığının vektörlüğü de *Aedes* cinsi sivrisinekler tarafından yapılır. Virüs ilk defa 1935 yılında Tanzanya'da izole edilmiştir. Virüs Togaviridae familyasının Alphavirus genusuna aittir (Pialoux vd., 2007). Hastalık ateş, deri döküntüsü ve eklem ağrısı gibi belirtilerle kendini gösterir. Hastalık eklem ağrısı

belirtileri dışında vektör türler, klinik belirtiler ve coğrafik dağılım olarak deng humması ile aynı özellikleri taşır (Pialoux vd., 2007). Virüs; enfekte insanlarla ve vektör *Ae. albopictus* 'un Belçika, Bosna, Hırvatistan, Fransa, Yunanistan, Hollanda, Sırbistan, İspanya, İsviçre ve Orta Amerika, Brezilya ve USA'a girmesiyle, artık Avrupa'da ve Amerika'da da yayılım göstermektedir (Depoortere ve Coulombier, 2006; Parola vd., 2006). *Ae. albopictus* 'un varlığına dair kayıtlar verilmeden önce bile Avrupa'da chikungunya virüsünün dağılımı için riskli bölgeler arasında gösterilen Türkiye ise vektörün varlığından sonra bu hastalık için ileri seviyede riskli alanlar arasına girmiştir (Tilston vd., 2008; Öter vd., 2013).

Ae. aegypti chikungunya virüsü için birincil vektördür (De Lamballerie vd., 2008). *Ae. aegypti* Afrika, Hindistan ve Güneydoğu Asya'daki diğer ülkelerdeki bütün chikungunya salgınlarından neredeyse tek başına sorumludur (Mavale vd., 2010). *Ae. aegypti* 2004 yılında Kenya'da ve 2005 yılında Comoros adalarında popülasyonun % 63 ünü etkileyen çok büyük chikungunya salgınlarına sebep olmuştur (Staples vd., 2009). 2010-2011 yılında ise Yemen'de bir chikungunya salgını meydana gelmiş ve salgının olduğu yerlerden toplanan *Ae. aegypti* bireylerinde virüs tespit edilmiştir (Zayed vd., 2012). *Ae. albopictus* ise virüslü kanın 2 gün içinde sindirilmesiyle, chikungunya virüsünü enzootik (bölgesel) veya köprü vektör olarak bulaştırabilme kapasitesine sahiptir. *Ae. albopictus* 'un 2005-2007 yıllarında La Reunion adasında, 2007'de İtalya'da ve 2010 yıllarında Fransa'da meydana gelen chikungunya salgınlarının sorumlu vektörü olduğu tespit edilmiştir (Gould vd., 2010).

Ae. aegypti'nin birincil olarak ve *Ae. albopictus* 'un ise potansiyel olarak vektörlük yaptığı zika virüsü ise Flaviviridae familyası ve Flavivirus cinsine ait bir virüstür. ZIKV ilk defa 1947 yılında Uganda'da bir maymundan izole edilmiştir ve daha sonra az da olsa Afrika ve Asya'da insan enfeksiyonları görülmüştür (Hayes, 2009). 2007 yılında güneydoğu Pasifik Okyanusu'ndaki Yap adasında kızarıklık, eklem ağrısı ve konjunktivitis belirtileriyle ortaya çıkmış orta dereceli bir zika virüsü salgını meydana gelmiştir, bu salgınla virüs Afrika ve Asya dışında ilk kez tespit edilmiştir (Hayes, 2009). 2013 yılında Ekim ayında Fransız Polinezya'sında meydana gelen ve 28000 vakayla popülasyonun yaklaşık % 11'ini etkileyen salgına kadar Pasifik'de daha sonra görülmemiştir (Kutsuna vd., 2014). Dünya Sağlık Örgütü 2 Mayıs 2016 tarihinde yaptığı açıklamada Avrupa'da zika epidemilerinin görülmeye

başlanabileceğini ve bu salgınların ülkelere göre farklılık gösterebileceğini, özellikle *Ae. aegypti*'nin yayılım gösterdiği ülkelerde hastalık riskinin oldukça yüksek olduğunu belirtmiştir. *Ae. albopictus* 'un yayılım gösterdiği ve içinde Türkiye, Gürcistan, İtalya, İspanya, Yunanistan gibi 18 Avrupa ülkesinde de orta düzeyde salgınlar beklendiği bildirilmiştir. Bu durumda Türkiye zika virüsü için yüksek riskli bölgeler arasına girmiştir (WHO, 2016). Zika virüsünün belirtileri deng ya da sarıhumma gibi diğer arbovirüs enfeksiyonlarının semptomlarına oldukça benzerlik gösterir ve gözlerde kızarma, kusma, döküntü, kas ve eklem ağrısı gibi belirtiler verir. Virüsün bulaştığı kişilerde belirtiler yaklaşık bir hafta içinde ortaya çıkar ve 2 ile 7 gün arasında sonlanır. Hastalıkta ölüm nadir olarak gerçekleşse de bu virüs hamile kadınlar için çok büyük risk oluşturmaktadır. Zika virüsü hamile kadınlarda fetüse geçer ve bebeklerde ağır zekâ geriliğine yol açan mikrosefaliye (küçük kafa sendromu) neden olur. 2015 yılı Nisan ayından beri bilinen en büyük zika virüsü salgını yaşanan Brezilya'da mikrosefalili olarak doğan çocukların sayısında ki artış virüs ile hastalık arasındaki bağlantıyı doğrulamış durumda ve son araştırmalar 2015-2016 arasında ortaya çıkan mikrosefali vakalarının 5000 civarına ulaştığını göstermektedir (Mlakar vd., 2016). Ayrıca 2013 yılında Fransız Polinezyasında ve daha sonrasında ise Brezilya'da meydana gelen zika salgınlarından sonra virüsün bulaştığı bazı hastalarda bağışıklık sisteminin baskılanmasıyla ortaya çıkan ve sinirlerin miyelin kılıflarını kaybetmeleri sonucu sinir iletiminin azalmasıyla kas güçsüzlüğü, felç, duyu bozukluğu ve son aşamada solunum yetmezliği belirtileri veren otoimmün bir hastalık olan Guillain-Barré sendromunun gelişmesiyle virüsün bu sendromla bağlantısı da ortaya çıkmış durumdadır (Brasil vd., 2016).

Arboviral hastalıkların omurgalı konaklarında ve sivrisineklerde tespitinde RNA sekanslarının kullanıldığı nükleik asit analizlerini ve serolojik testleri kapsayan çok çeşitli yöntemler kullanılmaktadır. Enzime-Linked İmmunosorbent Assay (ELISA) yöntemi, antikor veya antijeni doğrudan bağlama prensibiyle çalışan ve en yaygın olarak kullanılan yöntemlerden bir tanesidir (Stafinagos ve Heyman, 2005). Bu test serum içerisindeki virüs enfeksiyonunu antijen-antikor özgüllüğünü kullanarak tespit eder. İkinci bir test olan Vectest® antijen panel yöntemi ise Medikal Analiz Sistemleri tarafından gruplanan sivrisineklerde virus antijenlerini tespit etmek için geliştirilmiş bir yöntemdir. Bu yöntemde tip-spesifik monoklonal antikorların virus

antijenlerine karşı kullanır ve renk değişimi antijen varlığını gösterir. Bu yöntem RT-PZR yöntemine göre daha az hassastır ve örneğin içerisinde sadece antijenin varlığını belirleyebiliyorken viral antijenin kantitatif değerlendirmesi konusunda hiçbir bilgi vermez (Nasci vd., 2002).

RNA sekanslarının kullanıldığı yöntemlerden en çok kullanılanlar ise RT-PZR ve nested PZR yöntemleridir. RT-PZR, Taq DNA polimerazın 5'-3' eksonükleaz aktivitesi temeline dayanır (Leutenegger, 2009). Yöntemde kullanılan ileri primer, bir tanesi belirleyici (6-karboksifluoreskin (FAM)), diğeri ise bu boyanın spektrumunu zenginleştirici (6-karboksil-tetrametil-rhodamine (TAMRA)) iki tane floresan boya taşır. Polimeraz zincir reaksiyonu primeri uzattığı zaman, probe yer değiştirir ve polimerazdaki aktivite belirleyici boyayı probdan ayırır. Belirleyici boya serbest kaldığı zaman, bir floresan sinyal oluşur ve oluşan bu sinyal optik bir belirleyici sistemle okunur. Bu teknik floresan boyalı problardan dolayı virüs tespitinde arttırılmış bir hassaslık gösterir.

Nested PZR ise birbirini takip eden iki polimeraz zinciri reaksiyonundan oluşur. Yöntemde istenilen amplifiye dizilerin i bölgesinin çoğaltılması ile dizayn edilen ikinci bir PZR yöntemi uygulanmaktadır. Uygulanan ilk amplifikasyonda, hedef DNA dizisinin dış bölgesine özgü iki dış primer kullanılarak uzun bir bölgenin çoğaltılması gerçekleşmektedir. İkinci amplifikasyon mekanizmasında, ilk amplifikasyondan gelen bölgenin i bölgesine bağlanan iki i primer kullanılarak küçük alanın çoğaltılması sağlanmaktadır. Nested PZR'ın istenilen dizinin bulunup çoğaltılmasında hassasiyeti 104 kat arttırdığı tahmin edilmektedir ve ikinci PZR işleminden sonra ortamda istenilmeyen dizi kalmamaktadır. İkinci PZR işleminde kullanılan primerlerin 3' ucunda bulunan iki veya üç nükleotidlik dizi yöntemin hassasiyetini ortaya çıkarmaktadır.

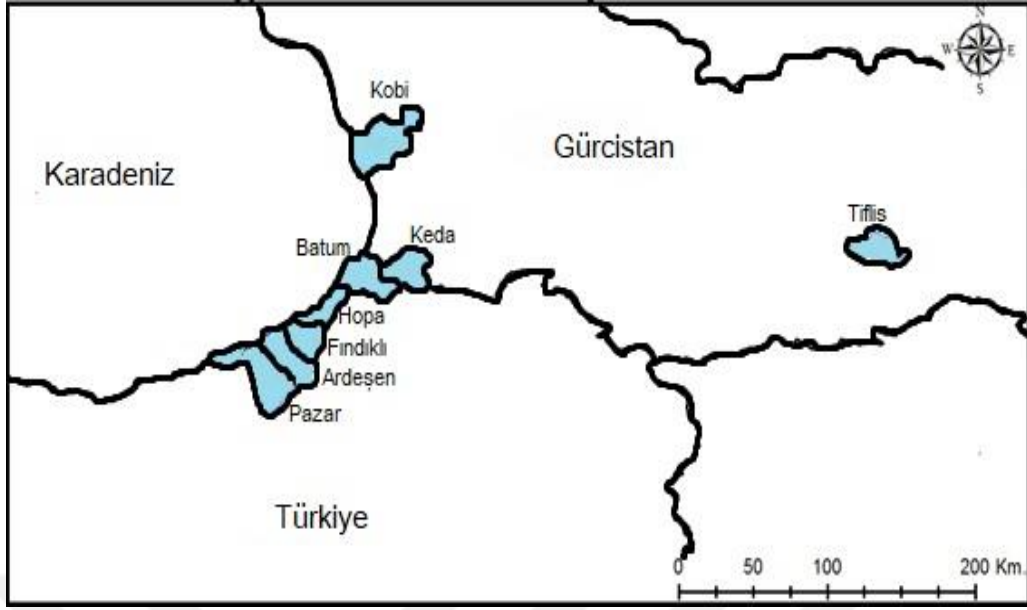
Nucleic acid sequence-based amplification (NASBA) yöntemi ise, BNV'nü de içine alan birçok patojeni tespit etmek için kullanılan oldukça güçlü bir amplifikasyon yöntemidir. Bu yöntemde reverse transkriptaz, T7 RNA polimeraz ve RNaz H'ı içeren üç tane enzim kullanılır. Amplifiye edilmiş RNA ürünü, amplifikasyon reaksiyonu içerisinde yer alan moleküler işaretli problemlerin kullanımıyla tespit edilir (Lanciotti vd., 2000). Moleküler işaret bir tane 5' floresan boya ve bir 4-dimetilaminofenilazbenzol içerir. Eğer çalışılan örnek BNV pozitif ise, prob hedef bölgeyle hibridize olur,

belirleyici boyayı zenginleştirici boyadan ayırır ve floresan sinyalde ölçülebilir bir artışa sebep olur. Bu yöntemin avantajı sonuçları 1 saatten daha kısa bir sürede verebilmesidir.

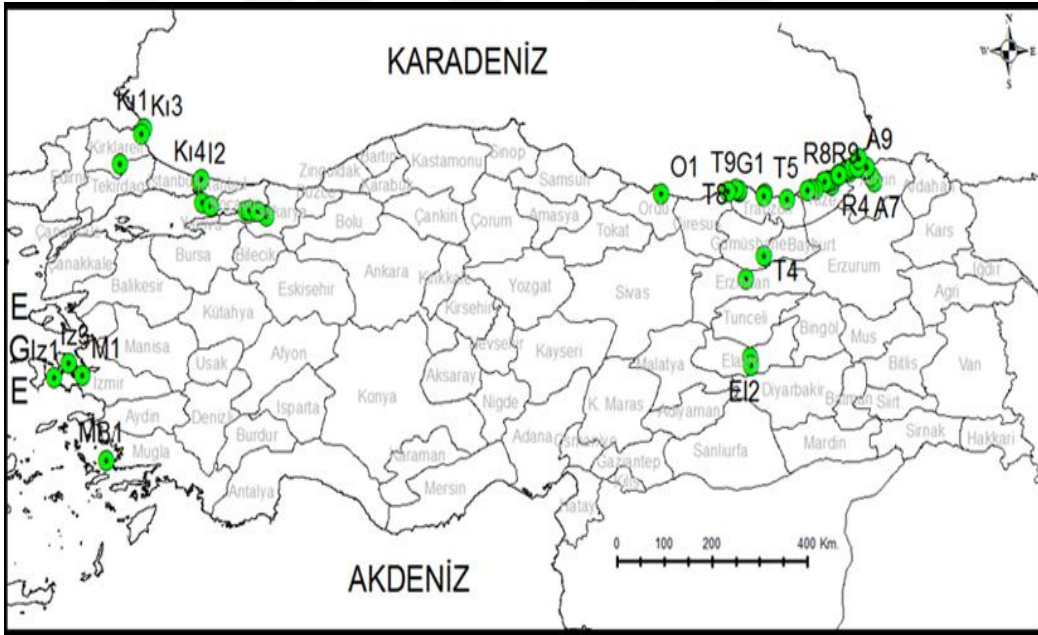
Sivrisineklerde ve omurgalı konaklarında arbovirus tespiti için kullanılan tüm yöntemler etkili olmakla beraber, hepsi bazı sınırlamalara sahiptir. Sonuç olarak, PZR yöntemleri canlı virusü tespit etmek için kullanılan standart hücre kültürü yöntemlerinin yerini almıştır (Lanciotti vd., 2000). Vero hücre kültürleri, üremiş herhangi bir virüsün tespit edilmesinde çok hassas olmalarına rağmen pahalı ve yavaş yöntemlerdir.

Genetik çalışmalar, belirli genetik belirteçlerin popülasyon parametrelerini anlamak için kullanılabileceğini ortaya koymuştur. Mitokondriyal DNA (mtDNA), ve genomik DNA belirteçleri böceklerde genetik sürüklenmeyi ve genetik farklılaşmayı ölçmek için moleküler çalışmalarda en çok kullanılan belirteçtir ve nükleer DNA'dan daha hassastır (Awise, 1994). Başta COI, olmak üzere ND4 ve ND5 *Aedes* türlerinin tanımlanması ve popülasyon yapısı ve filocoğrafyasının belirlenmesi için yaygın olarak kullanılmaktadır (Birungi and Munstermann, 2002; Bosio vd., 2005; Mousson vd., 2005; Bracco vd., 2007; Usmani-Brown, 2009; Delatte vd., 2011; Kamgang vd., 2011; Žitko vd., 2011; Porretta vd., 2012; Beebe vd., 2013; Shaikevich and Talbalaghi, 2013; Zhong vd., 2013; Zawani vd., 2014; Elnour vd., 2020; Naim vd., 2020). Ayrıca ITS2 gen bölgeleri mitokondriyal gen bölgeleri kadar sık kullanılsa da bu çalışmalarda tercih edilebilir. Hatta bazı çalışmalarda bu gen dizilerini birleştiren çalışmalar da mevcuttur (Hao vd., 2017; Zé-Zé vd., 2020; Khater vd., 2021).

Genetik çeşitlilik canlıların doğadaki başarılarını etkileyen önemli parametredir. Yeni alana yerleşen yüksek genetik çeşitliliğe sahip türlerin popülasyonu, yerleşme ve yayılma sırasında daha başarılı olabilir. Bunun yanında istilacı türler hem darboğaz hem de genetik sürüklenme nedeniyle yerli türlere göre daha düşük bir genetik çeşitlilik sergileyebilirler. Bu durum istilacı türler açısından olumsuz bir durum olarak görülmesine rağmen türlerin yeni istila ettikleri alanlarda belki de defalarca darboğaz ve kurucu etkisiyle karşılaşılarda yeni alanlarda başarılı olabilmektedir (Dlugosch vd.,2016).



Şekil 4. *Ae. aegypti* için tarama yapılan alanlar



Şekil 5. *Ae. albopictus* için örneklem noktaları

Türlerin pozitiflik gösterdiği alanlarda ergin ve ergin öncesi dönemlere ait örneklemeler yapılmıştır. Örnekleme prosedürü amaca uygun olarak aktif ve dinlenme halindeki ergin, larva ve yumurta olarak Avrupa Hastalık Kontrol Ajansı (ECDC) tarafından yayınlanmış olan protokollere uygun gerçekleştirilmiştir (ECDC, 2012). Bu anlamda rotalar üzerinden geçen toplam 36 il taranmıştır. Taranan bu illerde toplamda Doğu ve Orta Karadeniz’de 274 pozitif alan, Batı Karadeniz ve Marmara’da 21 alan, İstanbul ve Trakya’da 41 alan, Ege bölgesinde 15 alan ve Doğu Anadolu bölgesinde 6

alan pozitif olarak saptanmıştır (Şekil 5). Örnek toplama alanları konum bilgileri Garmin Etrex Legend Hcx ® GPS cihazı kullanılarak WGS84 formatında kayıt altına alınmıştır. Ancak maliyetler göz önüne alınarak yakın alanlar çalışmadan çıkarılmıştır. Çalışma için seçilen alanlar toplanan örnek türleri ve örnek toplama habitatları Tablo 1 de verilmiştir.

Tablo 1. Örneklem için seçilen alanlar ve örneklerin toplanma şekilleri

İl	Bölge kodu	LD	HLC	BG	EVS	OV	Ae.		Habitat
							<i>albopictus</i>	<i>aegypti</i>	
Artvin	A1	X		X	X		X	X	Atık lastik ve larval habitat yanı
	A2	X		X	X		X		Atık lastik ve larval habitat yanı
	A3	X		X	X		X		Atık lastik ve larval habitat yanı
	A4	X	X	X	X	X	X		Atık lastik ve larval habitat yanı
	A5	X		X	X		X	X	Atık lastik ve larval habitat yanı
	A6	X		X	X			X	Atık lastik ve larval habitat yanı
	A7	X	X	X	X	X	X	X	Atık lastik ve larval habitat yanı
	A8	X	X	X	X	X	X	X	Atık lastik ve larval habitat yanı
	A9	X		X	X		X		Atık lastik ve larval habitat yanı
	A10	X	X	X	X	X	X		Atık lastik ve larval habitat yanı
	A11	X		X	X		X		Atık lastik ve larval habitat yanı
	A12	X		X	X		X		Atık lastik ve larval habitat yanı
	A13	X	X	X	X	X	X		Atık lastik ve larval habitat yanı
	A14	X	X	X	X	X	X	X	Atık lastik ve larval habitat yanı
	A15	X	X	X	X	X	X	X	Atık lastik ve larval habitat yanı
	A16	X	X	X	X	X	X	X	Atık lastik ve larval habitat yanı
	A17	X		X	X		X		Atık lastik ve larval habitat yanı
	A18	X		X	X		X		Atık lastik ve larval habitat yanı
	R1	X	X	X	X	X	X		Atık lastik ve larval habitat yanı
	R2	X		X	X		X		Atık lastik ve larval habitat yanı
R3	X		X	X			X	Atık lastik ve larval habitat yanı	
R4	X		X	X		X		Atık lastik ve larval habitat yanı	
R5	X	X	X	X	X	X	X	Atık lastik ve larval habitat yanı	
R6	X		X	X			X	Atık lastik ve larval habitat yanı	
R7	X	X	X	X	X	X	X	Atık lastik ve larval habitat yanı	
R8	X		X	X		X		Atık lastik ve larval habitat yanı	
R9	X		X	X			X	Atık lastik ve larval habitat yanı	
R10	X		X	X			X	Atık lastik ve larval habitat yanı	
R11	X	X	X	X	X	X	X	Atık lastik ve larval habitat yanı	
R12	X	X	X	X	X	X	X	Atık lastik ve larval habitat yanı	
R13	X	X	X	X	X	X	X	Atık lastik ve larval habitat yanı	
R14	X	X	X	X	X	X	X	Atık lastik ve larval habitat yanı	
R15	X	X	X	X	X	X		Atık lastik ve larval habitat yanı	
Rize	R16	X		X	X			X	Atık lastik ve larval habitat yanı

Tablo 1. (Devam) Örneklem için seçilen alanlar ve örneklerin toplanma şekilleri

İl	Bölge kodu	LD	HLC	BG	EVS	OV	Ae.	Ae.	Habitat
							albopictus	aegypti	
Rize	R17	X	X	X	X	X	X		Atık lastik ve larval habitat yanı
	R18	X	X	X	X	X	X		Atık lastik ve larval habitat yanı
	R19	X	X	X	X	X	X		Atık lastik ve larval habitat yanı
	R20	X	X	X	X	X	X		Atık lastik ve larval habitat yanı
	T1	X	X	X	X	X	X		Atık lastik ve larval habitat yanı
	T2	X		X	X		X	X	Atık lastik ve larval habitat yanı
	T3	X	X	X	X	X	X	X	Atık lastik ve larval habitat yanı
	T4	X		X	X			X	Atık lastik ve larval habitat yanı
	T5	X		X	X			X	Atık lastik ve larval habitat yanı
	T6	X	X	X	X	X	X		Atık lastik ve larval habitat yanı
Trabzon	T7	X		X	X		X		Atık lastik ve larval habitat yanı
	T8	X		X	X		X		Atık lastik ve larval habitat yanı
Giresun	T9	X		X	X		X		Atık lastik ve larval habitat yanı
Ordu	G1	X					X		Atık lastik
	O1	X					X		Atık lastik
Elazığ	E11	X					X		Atık lastik
	E12	X					X		Atık lastik
Erzincan	Er1	X					X		Atık lastik
	S1	X					X		Atık lastik
Kocaeli	Ko1	X					X		Atık lastik
	Ko2	X					X		Atık lastik
	Ko3	X					X		Atık lastik
	I1	X	X				X		Atık lastik ve larval habitat yanı
İstanbul	I2	X	X				X		Atık lastik ve larval habitat yanı
	I3	X	X				X		Atık lastik ve larval habitat yanı
	K11	X	X				X		Atık lastik ve larval habitat yanı
	K12	X	X				X		Atık lastik ve larval habitat yanı
	K13	X	X				X		Atık lastik ve larval habitat yanı
Kırklareli	K14	X	X				X		Atık lastik ve larval habitat yanı
	Iz1	X					X		Atık lastik
İzmir	Iz2	X	X			X	X		Atık lastik ve larval habitat yanı
	Iz3	X	X				X		Atık lastik ve larval habitat yanı
	M1	X	X				X		Atık lastik ve larval habitat yanı
Muğla	MB1	X	X				X	X	Atık lastik ve larval habitat yanı
	GeoB1	X					X	X	Atık lastik
	GeoK1	X					X	X	Atık lastik
	GeoT1	X					X	X	Atık lastik
Gürcistan	GeoP1	X					X		Atık lastik

2.3. Örneklerin Toplanması ve Saklanması

Her iki tür için muhtemel üreme alanlarında bulunan yapay alanlar ve yarı yapay alanlar (atık lastik içleri ve Doğu Karadeniz için özellikle teleferik lastikleri), atık plastik kaplar, çeşme yalakları, ağaç kovukları, klozet, lavabo vb. yapıda atık mermer içleri, çatı olukları, saksı içleri, mezarlık başlıkları, havuzlar, içerisinde su birikmiş metal içleri vb.) kontrol edilmiştir. Alanlarda ergin öncesi (larva ve pupa) sivrisinek örnekleri “kepçe daldırma yöntemi” (LD) ile toplanmıştır. Aynı zamanda larva örnekleme yapıldığı esnada bir kişi larva örnekleme yaparken diğer bir kişi

örnekleme yapan kişi üzerine gelen ergin bireyleri “human langing catch” (HLC) yöntemi ile ağız aspiratörü kullanılarak toplamıştır (Bu durum doğal koşullar altında herhangi bir insan müdahalesi olmayan yöntem olduğundan herhangi bir etik kurul izni gerektirmemektedir). Ergin birey saldırısı olmayan alanlarda işe HLC yöntemi ile örneklem yapılmamıştır. Araziden toplanan larva ve pupa örnekleri toplama alanları ve toplama tarihi etiketlenerek 50 mL’lik kaplar içerisinde canlı olarak ya da % 70’lik etanol içerisinde ölü olarak laboratuvara getirilmiştir. Laboratuvara canlı olarak getirilen örnekler ucu genişletilen pastör pipeti ile ayıklanarak 500ml hacme sahip dikdörtgen larva yetiştirme kaplarına alınmıştır. Larva yetiştirme kabı kabın 1/3 üne denk gelecek şekilde dinlendirilmiş organik su eklenmiştir. Larvaların beslenmeleri için balık yemi (kaz ciğeri) kullanılmıştır. Pupa halinde toplanan örnekler ise ayrı ayrı 50cm x 50cm x 50cm’lik tül kafeslere konularak ergin hale gelmeleri sağlanmıştır. Larva olarak toplanan örnekler günlük olarak kontrol edilmiş pupa evresine gelen örnekler kafeslere eklenmiştir. Erginleşen örnekler morfolojik olarak tanımlanarak çalışmalarda kullanılmak üzere -80°C’de saklanmıştır.

Ergin örneklerin toplanması yukarıda belirtildiği gibi çalışmalar sırasında insanlara saldıran örneklerin toplanması ile yapılmıştır. Bunu yanında bazı uygun habitatlarda gerek türlerin bölgede olmaması gerekse türlerin popülasyon seviyelerinin düşük olması sebebiyle çalışmalar sırasında ergin örneklerine rastlanmamıştır. Olası ergin örneklerinin toplanması amacıyla fanlı tuzaklar kullanılmıştır. Ergin örneklemede *Aedes* cinsi sivrisineklerin toplanmasında sıklıkla kullanılan EVS tuzak, BG sentinel tuzak olmak üzere iki farklı tuzak sistemi kullanılmıştır. Tuzakların çekicilikleri EVS tuzak sistemi için ışık, BG sentinel tuzaklar için ticari olarak satın alınan BG sentinel tuzaklara özelleştirilmiş sivrisinek çekiçileri kullanılarak artırıldı. Kullanılan tuzaklar, bir gün boyunca çalıştırılmıştır. Ertesi gün toplanan tuzaklardaki *Ae. albopictus* ve *Ae. aegypti* örnekleri kuzu buz üzerinde öldürülerek toplanan alan, toplama tarihine göre etiketlenerek sıvı azot içerisinde laboratuvara nakledilmiştir. Morfolojik ayrımları yapılan örnekler tür, toplama tarihi, toplama sekline göre daha sonra yapılacak olan virüs taramaları için havuzlamıştır. Havuzlar oluşturulurken havuzdaki örnek sayısının maksimum 40 olmasına dikkat edilmiş, 40’den fazla örneğe ek havuzlar oluşturularak bu havuzlara aktarılmıştır (Tablo 13). Havuzlanan örnekler laboratuvar çalışmalarına kadar -80°C’de saklanmıştır.

Bazı alanlarda ise yumurta örneklemi yapılmış örneklem işlemi Ovitrap tuzaklar kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Kullanılan ovitrap tuzaklar larva ve ergin örneklerinin toplanmasının zor olduğu alanlarda ve *Ae. aegypti* örneklerinin toplanmasında tercih edilmiştir. Ovitrap olarak tercih edilen kaplar genel siyah renkli yaklaşık 250 mL'lik kaplardan oluşmaktadır. Kaplar 3/2'sine kadar çürümüş organik maddece zengin su ile doldurulduktan sonra kabın iç yüzeyi yumurtaları daha rahat toplamak için çimlendirme kâğıdı ile kaplanarak bir hafta boyunca arazide bırakılarak gerçekleştirilmiştir. Bir hafta sonra toplanan tuzaklardan elde edilen yumurta örnekleri bir günlük açık havada kurutulma işleminden sonra 500 mL'lik plastik lavra yetiştirme kaplarına alınarak yumurtaların üzeri tamamen suyla kaplanacak şekilde su eklenmiştir. Açılan yumurtalar için araziden toplanan larva örneklerine uygulanan işlemler aynen yürütülmüştür. Toplanan her bir örneklem noktasına ait arazi koordinat noktaları, örnek toplama alanlarına ait biyolojik, habitat ve ekolojik özellikler ile kayıt edilmiştir.

2.4. Morfolojik Tür Ayrımı

Aedes cinsine ait olan örneklerin tür ayrımı buz üzerinde yapılmış olup tür ayrımı, bilgisayar destekli stereo mikroskop ve elektronik ortamda yazılı Schaffner vd. (2001) tarafından hazırlanan sivrisinek tür tayin anahtarı ile yapılmıştır. *Ae. albopictus* ve *Ae. aegypti* türlerine ait olan bireyler çalışmalarda kullanılmıştır. Türlerin teşhisi için daha kolay olan ergin örnekler kullanılmıştır.

2.5. DNA İzolasyonu Yapılması

Arazi çalışmaları sonucunda elde edilen ve morfolojik tür tesisleri yapılmış olan *Ae. albopictus* ve *Ae. aegypti* pozitif bulunan alanlardan elde edilen örneklerin DNA izolasyonu için Thermo Genejet® genomik DNA izolasyon kiti kullanılmıştır. DNA izolasyonu üreticinin daha önce tavsiye ettiği protokole göre sivrisineklere uyarlanarak gerçekleştirilmiştir. Protokol kısaca; 1,5 mL'lik steril epandorf içerisine konulan tek birey üzerine 180 µL parçalama solüsyonu eklenerek mekanik parçalama için uyarlanmış ticari porselen uç yardımı ile ezilmiş ve her bir örneğe 20'şer µL proteinaz K eklenerek her örnek 1 dakika boyunca vortekslenip proteinlerin kimyasal parçalanması için 56°C derecede 3 saat inkübe edilmiştir. Süre sonunda her bir örneğe

10 µL RNAaz eklenerek pipet ucu ile karıştırılıp 10 dakika 25°C derecede inkübe edilmiştir. Bu aşamasından sonra eppendorflara 200 µL lizis solüsyonu eklenmiş ve her örnek 15- 20 saniye vortekslenip eppendorflara 400 µL % 50'lik alkol eklenip karıştırılmıştır. Son karışım üretici tarafından verilen kolona yüklenmiş ve kolon yeni bir 2 mL'lik steril eppendorfa aktarılarak 6000 rpm de 1 dakika santrifüj edilmiştir. Daha sonra kolon temiz bir eppendorfa alınmış ve ilk eppendorf atılmıştır. Kolona 500 µl yıkama solüsyonu 1 eklenerek 6000 rpm de 1 dakika santrifüj edilmiştir. Eppendorfta toplanan sıvı eppendorfla birlikte atılmıştır. Kolon tekrardan steril 1.5 mL'lik eppendorf tüpe konularak üzerine 500 µl yıkama solüsyonu 2 eklenerek 6000 rpm de 3 dakika santrifüj edilmiştir. Dipte kalan ve kolondan süzülen sıvı kısım eppendorf tüple birlikte atılmış ve kolon 1.5 mL'lik yeni tüpe aktarılarak kolona 200 µL elüsyon solüsyonu eklenmiştir. Bu halde 2 dakika oda sıcaklığında inkübe edilen örnekler 6000 rpm de 1 dakika santrifüj edilmiştir. Son aşamada kolon atılıp eppendorf tüpte toplanan kısım alınmıştır. İzole edilen örneklerde DNA varlığı ve kalitesi belirlemek için % 2'lik agaroz jelde elektroforez yöntemi ile kontrol edilmiştir. Jeldeki DNA WISEUV ® jel görüntüleme cihazı kullanılarak UV ışık altında görselleştirilmiştir. Elde edilen DNA'lar, PZR işlemine kadar -20°C'de saklanmıştır.

2.6. Hedef Gen Bölgelerinin Çoğaltılması

2.6.1. COI (C1) Gen Bölgesinin Çoğaltılması

COI gen bölgesinin çoğaltılması için Folmer vd. (1994) tarafından tanımlanan ve aynı zamanda barkotlama primeri olarak bilinen HCO2198 ve LCO1490 primer setleri kullanılmıştır (Folmer vd., 1994). Bu gen bölgesi hem *Ae. aegypti* hem de *Ae. albopictus* için çoğaltılmıştır ve protokol her iki tür için de aynı olarak kullanılmıştır. PZR karışımı Biolabs Taq DNA polimeraz kullanılarak hazırlanmıştır. Karışım üreticinin tavsiye ettiği oranlar (30 µL için; 1 x PZR tamponu, her dNTP'den 10 pmol, 2 mM MgCl₂, 0,15 mg/mL bovin serum albümini, her primerden 1 µL (10 pmol) bir birim Taq DNA polimeraz (New England Biolabs), yaklaşık 5 ng genomik DNA ve 30 µL'yi tamamlamak için uygun DdH₂O) kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Amplifikasyon 95°C'lik 2 dakika denatürasyon takiben 35 döngü boyunca 95°C 1 dakika 40°C 1 dakika, 72°C 30 saniye ve son olarak 72°C 7 dakika şeklinde yapılmıştır

(Tablo 2, Tablo 3). PZR reaksiyonları, bir T100™ Termal Döngüleyici (Bio-Rad, Hercules, CA) kullanılarak gerçekleştirilmiştir. PZR ürünleri % 1,5 agaroz jel içinde görüntülenmiştir (Şekil 8). Son olarak, pozitif numuneler doğrudan (Macrogen ® Amsterdam, Hollanda) dizilemeye gönderilmiştir.

2.6.2. ND4 (N4) Gen Bölgesinin Çoğaltılması

ND4 gen bölgesi ND4F ve ND4R primer setleri kullanılarak çoğaltılmıştır (Bracco vd., 2007). PZR karışımı Biolabs Taq polimeraz kullanılarak hazırlanmıştır. Karışım üreticinin tavsiye ettiği oranlar (30 µL için; 1 x PZR tamponu, her dNTP'den 10 pmol, 2 mM MgCl₂, 0,15 mg/mL bovin serum albümini, her primerden 1 µL (10 pmol) bir birim Taq DNA polimeraz (New England Biolabs), yaklaşık 5 ng genomik DNA ve 30 µL'yi tamamlamak için uygun DdH₂O) kullanılarak gerçekleştirilmiştir. PZR koşulları şu şekildedir. Amplifikasyon 94°C'lik 2 dakika denatürasyon takiben 35 döngü halinde 94°C 30 saniye, 54°C 30 saniye, 72°C 1 dakika ve son olarak 72°C 10 dakika şeklinde yapılmıştır (Tablo 2, Tablo 3). PZR reaksiyonları, bir T100™ Termal Döngüleyici (Bio-Rad, Hercules, CA) kullanılarak gerçekleştirilmiştir. PZR ürünleri % 1,5 agaroz jel içinde görüntülenmiştir (Şekil 8). Son olarak, pozitif numuneler doğrudan (Macrogen ® Amsterdam, Hollanda) dizilemeye gönderilmiştir.

2.6.3. ITS (I1) Gen Bölgesinin Çoğaltılması

Nükleer gen bölgesi olup ve *Aedes* türlerinin kısa yoldan jel görüntülerini kullanarak daha maliyetsiz sonuçlar veren ITS gen bölgesinin çoğaltılması için 18SFHINF, CP16R, Aeg.r1, ve Alb.r1 primerleri kullanılmıştır (Higa vd., 2010). Bu primer türlerin yalnızca jelden türlerin moleküler doğrulaması için kullanılmıştır. PZR karışımı Biolabs Taq polimeraz kullanılarak hazırlanmıştır. Karışım üreticinin tavsiye ettiği oranlar (30 µL için; 1 x PZR tamponu, her dNTP'den 10 pmol, 2 mM MgCl₂, 0,15 mg/mL bovin serum albümini, her primerden 1 µL (10 pmol) bir birim Taq DNA polimeraz (New England Biolabs), yaklaşık 5 ng genomik DNA ve 30 µL'yi tamamlamak için uygun DdH₂O) kullanılarak gerçekleştirilmiştir. PZR koşulları ise şu şekildedir. Amplifikasyon 97°C'lik 4 dakika denatürasyon takiben 30 döngü boyunca 96°C 30 saniye, 48°C 30 saniye, 72°C de 2 dakika ve son olarak 72°C 4 dakika şeklinde yapılmıştır (Tablo 2, Tablo 3). Elde edilen tüm PZR ürünleri % 1,5 agaroz

jelde görüntülenmiştir. PZR reaksiyonları, bir T100™ Termal Döngüleyici (Bio-Rad, Hercules, CA) kullanılarak gerçekleştirilmiştir. PZR ürünleri % 1,5 agaroz jel içinde görüntülendi. Elde edilen jel görüntüleri kullanılarak tür ayrımları yapılmıştır (*Ae. albopictus* için yaklaşık 1000 bp ve *Ae. aegypti* için yaklaşık 500 bp) (Şekil 8).

2.6.4. COI (C2) Gen Bölgesinin Çoğaltılması

Simon vd. (1994) ve COI mitokondrial gen bölgesi yalnızca *Ae. aegypti* için çoğaltılmış olup işlem C1J-1718 ve C1N-2191 primerleri ile gerçekleştirilmiştir. PZR karışımı üreticinin 30 µl hacim için tavsiye ettiği oranlar kullanılarak gerçekleştirilmiştir. PZR karışımı Biolabs Taq polimeraz kullanılarak hazırlanmıştır. Karışım üreticinin tavsiye ettiği oranlar (30 µL için; 1 x PZR tamponu, her dNTP'den 10 pmol, 2 mM MgCl₂, 0,15 mg/mL bovin serum albümini, her primerden 1 µL (10 pmol) bir birim Taq DNA polimeraz (New England Biolabs), yaklaşık 5 ng genomik DNA ve 30 µL'yi tamamlamak için uygun DdH₂O) kullanılarak gerçekleştirilmiştir. PZR amplikasyonu koşulları ise 1 döngü 95°C, 5 dakika ve takip eden 35 döngü boyunca 95°C, 30 saniye, 40°C, 45 saniye, 72°C, 1 dakika ve 1 döngü boyunca 72°C, 5 dakika olarak gerçekleştirilmiştir (Tablo 2, Tablo 3). PZR reaksiyonları, bir T100™ Termal Döngüleyici (Bio-Rad, Hercules, CA) kullanılarak gerçekleştirilmiştir. PZR ürünleri % 1,5 agaroz jel içinde görüntülenmiştir (Şekil 8). Son olarak, pozitif numuneler doğrudan (Macrogen ® Amsterdam, Hollanda) dizilemeye gönderilmiştir.

2.6.5. ND5 (N5) Gen Bölgesinin Çoğaltılması

ND5 gen bölgesi *Ae. aegypti* için moleküler çalışmalarda ve virüs taramalarında havuzlarının moleküler doğrulaması için kullanılmıştır. Hedef gen bölgesinin çoğaltma işlemi Birungi and Munstermann, (2002) tarafından tanımlanan ND5R ve ND5F primerleri kullanılarak gerçekleştirilmiştir. PZR karışımı 30 µl'lik son hacim olacak şekilde üreticinin tavsiye ettiği koşullar altında (1 x PZR tamponu, her dNTP'den 10 pmol, 2 mM MgCl₂, 0,15 mg/mL bovin serum albümini, her primerden 1 µL (10 pmol) bir birim Taq DNA polimeraz (New England Biolabs), yaklaşık 5 ng genomik DNA ve 30 µL'yi tamamlamak için uygun DdH₂O) gerçekleştirilmiştir. PZR koşulları 1 döngü boyunca 98°C, 2 dakika ve 30 döngü boyunca 95°C, 30 saniye, 45°C, 30 saniye, 72°C, 45 saniye ve 72°C, 5 dakika son uzama olacak şekilde yapılmıştır (Tablo 2, Tablo 3). PZR reaksiyonları, bir T100™

Termal Döngüleyici (Bio-Rad, Hercules, CA) kullanılarak gerçekleştirilmiştir. PZR ürünleri % 1,5 agaroz jel içinde görüntülenmiştir (Şekil 8). Son olarak, pozitif numuneler doğrudan (Macrogen ® Amsterdam, Hollanda) dizilemeye gönderilmiştir.

2.6.6. ITS 2 (I2) Gen Bölgesinin Çoğaltılması

5.8 s ve 28 s rDNA gen bölgelerini içine alan ITS gen bölgesi yalnızca *Ae. aegypti* için çoğaltılmış olup Porter & Colin (1991) tarafından tanımlanan primerler (5.8s ve 28s) kullanılarak gerçekleştirilmiştir. PZR karışımının 50 µL son hacim için üreticinin tavsiye ettiği karışım oranları (50 µL için; 1 x PZR tamponu, her dNTP'den 10 pmol, 2 mM MgCl₂, 0,15 mg/mL bovin serum albümini, her primerden 1 µL (10 pmol) bir birim Taq DNA polimeraz (New England Biolabs), yaklaşık 5 ng genomik DNA ve 50 µL'yi tamamlamak için uygun DdH₂O) kullanılarak gerçekleştirilmiştir. 1 döngü 95°C, 5 dakika, 35 döngü boyunca 95°C, 30 saniye, 58°C, 30 saniye, 72°C, 1 dakika, son olarak 1 döngü 72°C, 5 dakika olacak şekilde T100™ Termal Döngüleyici (Bio-Rad, Hercules, CA) kullanılarak gerçekleştirilmiştir (Tablo 2, Tablo 3). PZR ürünleri % 1,5 agaroz jel içinde görüntülenmiştir (Şekil 8). Son olarak, pozitif numuneler doğrudan (Macrogen ® Amsterdam, Hollanda) dizilemeye gönderilmiştir.

Tablo 2. Çalışmada kullanılan gen bölgelerine ait primerler, gen bölgelerine verilen kodlar ve reaksiyon koşulları

Gen bölgesi	Gen kodu	Primer adı	Yön	Primer sekans dizisi (5' → 3')
COI	C1	LCO1490	İleri	GGTCAACAAATCATAAAGATATTG
		HCO2198	Geri	TAAACTTCAGGGTGACCAAAAAATCA
COI	C2	C1-J-1718	İleri	GGAGGATTTGGAAATTGATTAGTTC
		C1-N-2191	Geri	CCCGGTAAAATTTAAAATATAAACTTC
ND4	N4	ND4F	İleri	ATTGCCTAAGGCTCATGTAG
		ND4R	Geri	TCGGCTTCCTAGTCGTTCAT
ND5	N5	ND5F	İleri	TCCTTAGAATAAAATCCCGC
		ND5R	Geri	GTTTCTGCTTTAGTTCATTCTTC
ITS	I1	18SFHIN	İleri	GTAAGCTTCCTTTGTACACACCGCCCGT
		aeg.r1	Geri	TAACGGACACCGTTCTAGGCCCT
ITS	I2	5.8 s	İleri	TGTGAACTGCAGGACACATG
		28 s	Geri	ATGCTTAAATTTAGGGGGTA

Tablo 3. Gen bölgelerine verilen kodlar ve reaksiyon koşulları

Gen kodu	PZR koşulları
C1	95°C, 5 dk., 1 döngü; 95°C, 30 s, 50°C, 30 s, 72°C, 1 dk., 35 döngü; 72°C, 5 dk., 1 döngü
C2	95°C, 5 dk., 1 döngü; 95°C, 30 s, 50°C, 45 s, 72°C, 1 dk., 35 döngü; 72°C, 5 dk., 1 döngü
N4	96°C, 1 dk., 1 döngü; 96°C, 30 s, 56°C, 30 s, 72°C, 1 dk., 35 döngü; 72°C, 7 dk., 1 döngü
N5	98°C, 2 dk., 1 döngü; 95°C, 30 s, 45°C, 30 s, 72°C, 45 s, 30 döngü; 72°C, 5 dk., 1 döngü
I1	97°C, 4 dk., 1 döngü; 96°C, 30 s, 48°C, 30 s, 72°C, 2 dk., 30 döngü; 72°C, 4 dk., 1 döngü
I2	95°C, 5 dk., 1 döngü; 95°C, 30 s, 58°C, 30 s, 72°C, 1 dk., 35 döngü; 72°C, 5 dk., 1 döngü

2.7. DNA Dizi Verilerinin Değerlendirilmesi ve Biyoinformatik Analizi

Moleküler çalışmalarla elde edilen ham DNA sekans verileri Mega 7 programı yardımı ile işlenmiştir (Kumar vd., 2016). Bozuk piklere sahip alanlar kırpılarak elde edilen diziler işlenmek üzere kullanılmıştır. Sekans dizilerinin kendi içlerinde ve Genbank'tan elde edilen daha önceki DNA dizileri ile karşılaştırılmış ve % 97 üzerinde benzerlik gösteren sekans dizileri çalışmada kullanılmıştır. Elde edilen kromatogramların ileri ve geri hizalanması sonucu DNA sekansları MEGA7 yazılımında (Kumar vd, 2016) Clustal W algoritması kullanılarak çoklu hizalama (multiple alignment) yapıldıktan sonra karşılaştırılmıştır.

Elde edilen işlenmiş sekans dizilerinin baz uzunlukları için polimorfik bölgeler (S), haplotip sayıları (H), haplotip çeşitliliği (Hd) ve nükleotid çeşitliliği (π) değerleri ve popülasyonların belirlenmesi her bir gen bölgesi için DnaSP 5.0 (Librado ve Rozas, 2009) kullanılarak hesaplanmıştır. Haplotiplerin dağılımı, AMOVA, nötralite testleri (Tajima's D, Fu's FS test) popülasyonlara arası farklılıklar Arlequin v 3.5.1.2 yazılımı gerçekleştirilmiştir (Excoffier vd., 1992; Excoffier ve Lischer, 2010). Yapılan testlerin tamamı 0,05 anlamlılık düzeyinde yapılmıştır. Elde edilen bütün p değerleri Holm'un düzeltme yöntemi kullanılarak düzeltilmiştir. *Ae. aegypti* için kullanılan birleştirilmiş sekans dizileri Sequence matrix programı kullanılarak birleştirilmiş ve elde edilen dizilerin parçalı homojenite testleri PAUP 4.0 ile yapılmıştır. Çalışmada elde edilen haplotiplerin arasındaki ilişki köksüz ağaç yöntemi kullanılarak Network 4.6.13 programı ile yapılmıştır. Çalışmada kullanılan filogenetik ağaçların tamamı Mega 7 programı kullanılarak yapılmış olup ağaçlar 1000 tekrarlı olacak şekilde yapılmıştır.

Ağaçlar için en uygun modeller JModelTest 3.0 (Posada ve Crandall, 1998) programı kullanılarak belirlenmiştir.

2.8. Çalışmada Kullanılan Karşılaştırma Sekans Dizilerini Elde Edilmesi

Ae. albopictus için coğrafi bölgelere ait popülasyonların muhtemel kökenleri belirlemek için basta en muhtemel köken olan Avrupa kıtası ve diğer kıtalara ait örnekler GenBank'tan "Aedes albopictus COX1" veya "Aedes albopictus COI" anahtar sözcükleri kullanılarak aranmıştır. Kökeni belirsiz ve yeterli uzunlukta olmayan örnekler çalışmaya dahil edilmemiş ve toplam 2179 COI dizisi elde edilmiştir.

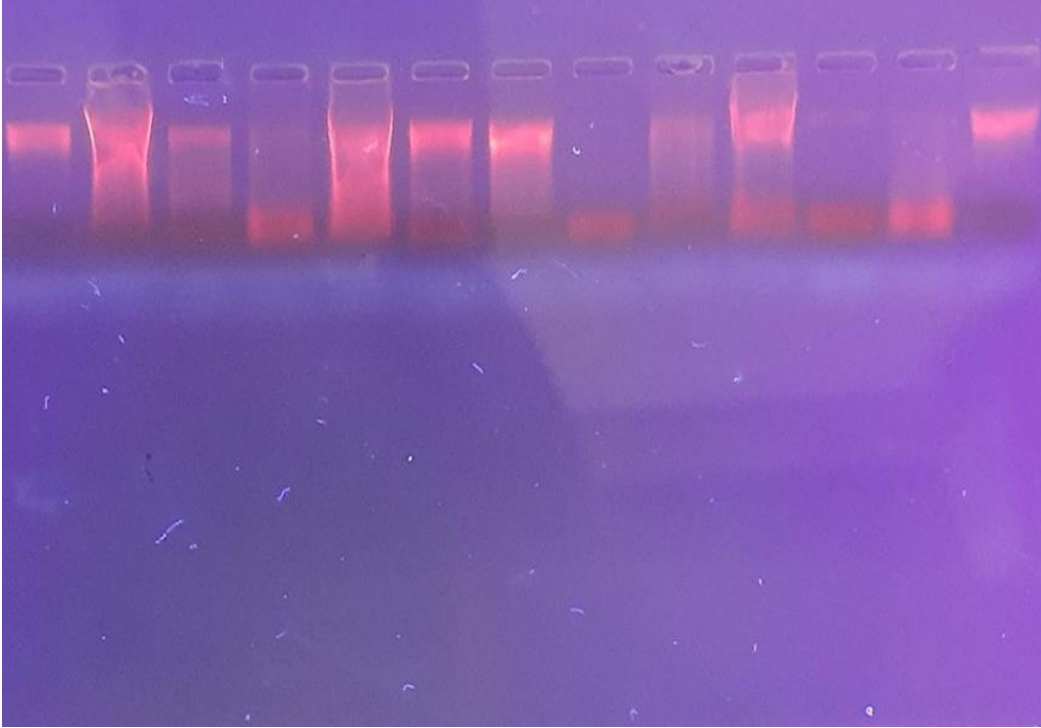
Ae. aegypti popülasyonlardan elde edilen haplotipler GenBank'tan blast sekmesi altında karşılaştırılarak elde edilen sonuçlarda % 100 uyumlu sekans dizileri çalışmada haplotiplerin kökenlerini belirlenmesi amacıyla filogenetik ağaçlarda kullanılmıştır. Çalışmada yeterli uzunluğa sahip olmayan ve kökeni net olmayan örnekler çalışmaya dahil edilmemiştir.

2.9. Virüs Varlığının Araştırılması

2.9.1. RNA İzolasyonu ve nRT-PZR Reaksiyonu

Tür teşhisi morfolojik ve moleküler olarak gerçekleştirilmiş (morfolojik ve moleküler teşhis kısmında belirtilmiştir) sivrisinekler türleri, toplanma yerleri ve zamanları dikkate alınarak gruplandırılmış ve havuzlar oluşturulmuştur. Havuzların toplanan sivrisinek sayısı yeterli olduğu sürece 40 örnekten az olmamasına dikkat edilmiştir. Elde edilen her havuz için homojenizasyon sağlamak amacıyla kuru buz üzerinde her bir havuza % 5 fetal dana serumu, % 1 penisilin/streptomisin ve % 1 L-glutamin içeren Eagle's MEM (minimal essential medium) buffer eklenmiştir. Daha sonra her bir havuz içerisindeki sivrisinek örnekleri steril porselen uçlar kullanılarak ezilmiştir. Elde edilen süspansiyon 4.000 rpm'de 4 dakika santrifüjlenmiştir. Elde edilen süpernatant RNA izolasyonu için kullanılmıştır. Her bir havuzdan elde edilen süpernatandan High Pure Viral Nükleik Asit Kit (Qiagen, Almanya) RNA izolasyon kiti kullanılarak RNA izolasyonu gerçekleştirilmiştir. RNA izolasyonları RNA izolasyon protokolüne uygun olarak gerçekleştirilmiştir. Protokol kısaca; her havuzda elde edilen süpernatanttan 200 µL steril bir 1,5 mL lik steril tüpe alınmıştır. Üzerine

100 µL baglama tampon eklenmiş ve karıştırılmıştır. Kit üreticisi tarafından sağlanan toplama tüpü içerisine filtre yerleştirilmiş ve elde edilen karışım filtreye aktarılmış ve 8,000 g 1 dakika santrifüj edilmiştir. Toplama tüpü atılarak filtre yeni bir toplama kabına alınmıştır. Üzerine 500 µL inhibitör uzaklaştırma tamponu eklenmiş ve 8,000 g 1 dakika santrifüj edilmiştir. Toplama tüpü atılarak filtre yeni bir toplama tüpüne yerleştirilmiştir. Filtreye 450 µL yıkama tampon eklenmiş ve 8,000 × g 1 dakika santrifüj edilip toplama tüpü atılarak adım tekrarlanmıştır. Filtre 1.5 mL lik santrifüj tüpü içerisine alınarak filtre kabına 50 µL Elution tamponu eklenmiş ve 1 dakika boyunca 8,000 g santrifüj edilmiştir. Santrifüj tüpü içerisindeki sıvı nükleik asid kaynağı olarak kullanılmak üzere -20°C derin dondurucuda saklanmıştır. İzole edilen RNAlara ait jel görüntüsü % 4 lük agaroz jelde görüntülenmiştir. İzole edilen RNA ya ait jel görüntüsü Şekil 6'da verilmiştir.



Şekil 6. İzole edilen RNA görüntüsü

2.9.2. Komplementer DNA (cDNA) Sentezi

Elde edilen RNA'nın cDNA'ya çevrilmesi işlemi ticari olarak satın alınan RevertAid First Strand cDNA Synthesis Kit (ThermoFisher SCIENTIFIC, ABD) kullanılarak üreticinin önerilerine göre yapılmıştır. Bir örnek için cDNA sentez master

mixi içeriğinde; 20 µL toplam hacim için 2 µL izole edilmiş RNA, 1µL Random Hexamer Primer, 4 µL 5X Reaction Buffer, 2 µL 10 mM dNTP Mix, 1 µL RevertAid RT (200 U/µL), 10 µL steril didistile su (nükleazsız) kullanılmıştır. cDNA sentezi reaksiyonu T100™ Thermal Cycler (Bio-Rad, Hercules, CA) cihazı kullanılarak gerçekleştirilmiş olup reaksiyon 1 döngü 94°C de 3 dakika. 35 döngü 94°C 30 saniye, 58°C de 30 saniye, 72°C 45 saniye olacak şekilde gerçekleştirilmiştir.

2.9.3. Örneklerinde Flavivirüs RNA'sının Araştırılması

Flavirus taramaları için NS5 korunmuş gen bölgesi içerisinde Sanchez-Seco vd. (2005) tarafından tanımlanan ve 7871 ve 9225 nükleotid dizisi arasındaki pozisyonlarının çoğaltılması ile gerçekleştirilmiştir. PZR işlemi iki basamakta gerçekleştirilmiştir. Birinci basamak PZR reaksiyon karışımı son hacim 50 ml olacak şekilde 3 µL 10x tampon, 2,4 µL MgCl₂ (2,5 mM), 0,6 µL her bir dNTP (0,1 mM), 0,6 µL her bir primer (20 pmol), 0,3 µL Taq DNA Polimeraz (2,5 U) ve 3 µL kalıp DNA ve yeteri kadar DdH₂O kullanılarak hazırlanmıştır. Karışım daha sonra 40 PZR döngüsünün takip ettiği 94°C 'de 2 dakika başlangıç denatürasyonuna maruz bırakılmıştır. PZR, 38°C'de 45 dakika ve 94°C'de 2 dakika başlangıç döngüsü, 94°C'de 30 saniye 40 denatürasyon döngüsü, 47°C'de 1 dakika bağlanma ve 72°C'de 15 saniye uzatma ve yine bu sıcaklıkta 5 dakika son aşama koşullarında gerçekleştirilmiştir. İkinci tur PZR işlemi master mix içeriği ve PZR koşulları ilk basamaktaki karışım ve koşullarla ile aynı olup sadece primer setleri değiştirilerek gerçekleştirilmiştir. Kullanılan bu primerler, hedef gen bölgeleri, pozisyonları, büyüklükleri ve alındıkları kaynak çalışmalar Tablo 4'de verilmiştir.

2.9.4. Örneklerinde Alphavirus RNA'sının Araştırılması

Alphavirus taramaları Sanchez-Seco vd. (2001) tarafından tanımlanan ve NsP4 korunmuş gen bölgesi içerişi içeren primerler kullanılarak Nested PZR yöntemi ile çoğaltılması ile gerçekleştirilmiştir. Birinci basamak PZR reaksiyon karışımı son hacim 50 ml olacak şekilde 3 µL 10x tampon, 2,4 µL MgCl₂ (2,5 mM), 0,6 µL her bir dNTP (0,1 mM), 0,6 µL her bir primer (20 pmol), 0,3 µL Taq DNA Polimeraz (2,5 U) ve 3 µL kalıp DNA ve yeteri kadar DdH₂O kullanılarak hazırlanmıştır. PZR döngüsünün takip ettiği 94°C 'de 2 dakika başlangıç denatürasyonuna maruz

bırakılmıştır. PZR, 38°C'de 45 dakika ve 94°C'de 2 dakika başlangıç döngüsü, 94°C'de 30 saniye 40 denaturasyon döngüsü, 47°C'de 1 dakika bağlanma ve 72°C'de 15 saniye uzatma ve yine bu sıcaklıkta 5 dakika son aşama koşullarında gerçekleştirilmiştir. İkinci tur PZR işlemi master mix içeriği ve PZR koşulları ilk basmaktaki karışım ve koşullarla ile aynı olup sadece primer setleri değiştirilerek gerçekleştirilmiştir. Kullanılan bu primerler, hedef gen bölgeleri, pozisyonları, büyüklükleri ve alındıkları kaynak çalışmalar Tablo 4'de verilmiştir.

2.9.5. Örneklerinde Phlebovirus RNA'sının Araştırılması

Örneklerinde Phlebovirus Araştırılması Sanchez-Seco vd. (2003) ve Johnson vd. (2001) tarafından tanımlanan ve L segmentini içerisine alan primerler kullanılarak Nested PZR yöntemi ile araştırılmıştır. Birinci basamak PZR reaksiyon karışımı son hacim 50 ml olacak şekilde 3 µL 10x tampon, 2,4 µL MgCl₂ (2,5 mM), 0,6 µL her bir dNTP (0,1 mM), 0,6 µL her bir primer (20 pmol), 0,3 µL Taq DNA Polimeraz (2,5 U) ve 3 µL kalıp DNA ve yeteri kadar DdH₂O kullanılarak hazırlanmıştır. PZR döngüsünün takip ettiği bir döngü 94°C 'de 2 dakika başlangıç denaturasyonuna maruz bırakılmıştır. Takip eden 40 döngü boyunca, 94°C'de 30 saniye, 45°C'de 2 dakika ve 72°C'de 30 saniye ve son uzama için 72°C'de 5 dakika olarak gerçekleştirildi. İkinci tur PZR işlemi master mix içeriği ve PZR koşulları ilk basmaktaki karışım ve koşullarla ile aynı olup sadece primer setleri değiştirilerek gerçekleştirilmiştir. Kullanılan bu primerler, hedef gen bölgeleri, pozisyonları, büyüklükleri ve alındıkları kaynak çalışmalar Tablo 4'de verilmiştir.

Tablo 4. Nested PZR için kullanılacak primerler, hedef gen bölgeleri, pozisyonları, büyüklükleri ve alındıkları kaynak çalışmalar¹

Protokol	Sekansa (5'-3')	Hedef gen bölgesi	Kaynak
Flavivirus	GAYYTIGGITGYGGIIGIGIRGITGG TCCAICCGCIRTRTCRTCIGC YGYRTIYAYAWCAYSATGGG CCARTGITCYKYRTTIAIRAAICC	NS5	Sanchez- Seco vd. (2005)
Alfavirus	GAYGCITAYYTIGAYATGGTIGAIGG KYTCYTCIGTRTGYTTIGTICIGG GIAAYTGAAAYGTIACICARATG GCRAAIARIGCIGCIGCYTYIGGICC	NsP4	Sanchez- Seco vd. (2001)
Plebovirus	ATGGARGGITTTGTIWSICIIIC AARTTRCTIGWIGCYTTIARIGTIGC WTICCIAAICCIYMSAARATG TCYTCYTTRTTYTTTRARRTARCC	L segmenti	Sanchez- Seco vd. (2003) Johnson vd. (2001)

Amplifikasyonlar tamamlandıktan sonra her karışım reaksiyonundan % 2'lik agaroz jel üzerinde yürütülüp UV ışığı altında bantların varlığına bakılmıştır. Pozitiflik veren örnekler PZR saflaştırma kiti kullanılarak saflaştırılıp ve dizi analizine gönderilerek tanımlanmıştır. Elde edilen diziler Clustal W çoklu sekans dizileme programı kullanılarak sıralanmıştır. Son olarak ise MEGA7 programı kullanılarak 1000 bootstrap tekrardan hesaplanmış bootstrap güvenilirlik değerleri ile Neighbour Joining ağaçları çizilmiştir.

¹ Oligonükleotidlerdeki değişken bazlar: I: Inozin; Y: C/T; R: A/G; W: G/C; M: A/C olarak yazılmıştır.

3. BULGULAR

3.1. *Ae. albopictus* ve *Ae. aegypti* Türlerinin Türkiye’deki dağılımı

2018 – 2020 yılları arasında yapılan arazi çalışmalarının neticesinde *Ae. aegypti* türünün dağılımının yalnızca Karadeniz bölgesinde 3 ilde (Artvin, Rize, Trabzon) sınırlı kaldığı belirlenmiştir. *Ae. albopictus* 2011 yılında Trakya bölgesinde 2015 yılında ise kuzey Karadeniz kıyılarında Artvin, Rize ve Trabzon illerinde ve 2016 yılında bu üç ile Giresun, Kocaeli, İstanbul ve Kırklareli’nde varlığı bilinmektedir. 2017 yıllarında ise bu illere ek olarak Ege İzmir’de varlığı tespit edilmiştir (Demirci vd., 2021a). 2020 yılında ise türün Muğla ve Aydın illerinde varlığı rapor edilmiştir (Yavaşoğlu, 2021)

Bu çalışma neticesinde ülkemizde türün Elazığ, Erzincan, ve Ordu illerinde de varlığı belirlenmiştir. *Ae. albopictus*’un ilk invazyon kayıtlarına göre hazırlanan görsel Şekil 7 de verilmiştir.



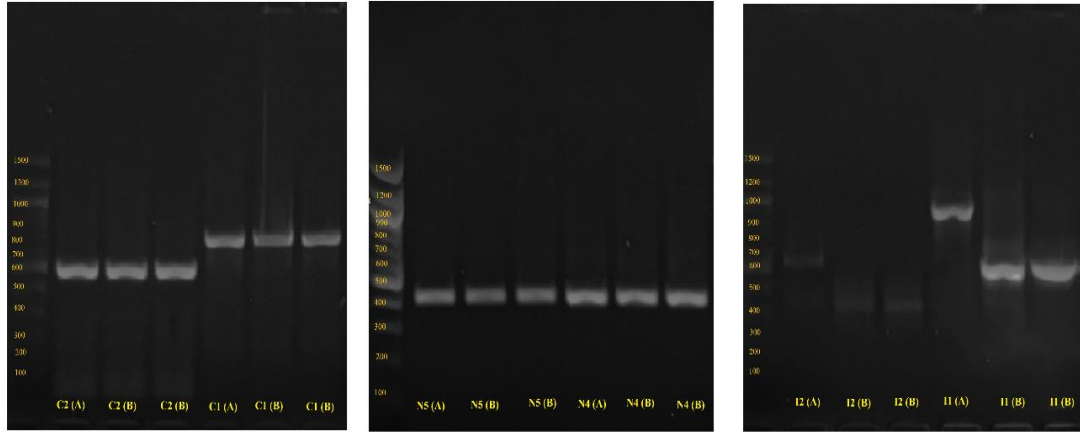
Şekil 7. Yıllara göre *Ae. albopictus* 'un Türkiye'deki invazyon öyküsü

3.2. Arazi Çalışmalarından Elde Edilen Bulgular

Yapılan arazi çalışmalarında toplamda 72 (Türkiye'den 68 ve Gürcistan'dan 4 lokasyon) farklı noktadan örneklem yapılmış olup toplamda 22 farklı noktada *Ae. aegypti* türü tespit edilmiştir. 14 noktada ise *Ae. albopictus* ve *Ae. aegypti* türlerinin birlikte bulunduğu saptanmıştır. Her iki türün birlikte bulunduğu lokasyonlar Artvin ve Rize illerine ait lokasyonlar olarak gözlenmiştir. Diğer alanlarda (50 alanda) ise sadece *Ae. albopictus* türünün varlığı saptanmıştır. Örnek toplama alanlarının tamamında larva örnekleme için kepçe daldırma (LD) metodu ergin örnekleme için Human Landing Catch (HLC), Encephalitis Vector Survey/ Işık (EVS), BG sentinel (BG) ve yumurta örnekleme için Ovitrap (OV) tuzakları kullanılmıştır (Tablo 1).

3.3. Türlerin Jelden Doğrulanması ve Diğer Gen Bölgelerinden Elde Edilen Bulgular

Moleküler çalışmalar da kullanılmak için ve Morfolojik olarak tanımlanan 596 örneğin moleküler olarak doğrulanması Higa vd. (2010) tarafından belirlenen ve 18S, 5.8S ve 16S genomik gen bölgelerini içeren ITS gen bölgesine jel görüntülerine göre yapılmıştır. *Ae. albopictus* örnekleri yaklaşık 1000 bp jel görüntüsü verirken *Ae. aegypti* örnekleri yaklaşık yaklaşık 500 bplik jel görüntüleri vermiştir. Çalışmada I2 olarak kodlanan ve Porter ve Colin (1991) tarafından belirlenen diğer ITS gen bölgesi için *Ae. albopictus* yaklaşık olarak 650 bp lik jel görüntüsü verirken *Ae. aegypti* örnekleri ise yaklaşık olarak 450 bp lik jel görüntüsü vermiştir. Çalışmada kullanılan ve C1 olarak kodlanan Folmer vd. (1994) tarafından tanımlanan COI gen bölgesi her iki tür için jel görüntüsü olarak 650- 700 bp vermiştir. Diğer C2 olarak kodlanan ve Simon vd. (1994) tarafından tanımlanan primerlerle üretilen COI gen bölgesi ise her iki tür için 500- 600 bp arası jel görüntüsü vermiştir. ND4 ve ND5 gen bölgeleri ise her iki tür ve gen bölgesi için 400- 500 bp arası bantlar vermiştir. Örneklere ait jel görüntüsü Şekil 8 de verilmiştir.



Şekil 8. *Ae. aegypti* ve *Ae. albopictus* için gen bölgelerine ait jel görüntüsü

3.4. *Ae. albopictus* için Moleküler Analizler ve Genetik Yapı

COI (C1) gen bölgesi için toplamda 554 örnekten DNA elde edilmiştir. İzole edilen bu örneklerin COI gen bölgesinden elde edilen PZR ürünleri 100 bplik ladder kullanılarak yaklaşık 600-650 bp arası jel görüntüsü elde edilmiştir (Şekil 8). Sekanslanan bu PZR ürünlerinden temizlenmesi sonucunda 599 bp lik DNA dizileri elde edilmiştir.

Elde edilen diziler 13 il için ayrı ayrı analiz edilmiştir. Toplamda 3 haplotip elde edilmiş ve bu dizilerin iki farklı mutasyon noktasından köken aldığı saptanmıştır. Toplam sekansların haplotip ve nükleotid çeşitliliği sırasıyla 0,17 ve 0, 00 olarak hesaplanmıştır. İllere göre en yüksek haplotip ve nükleotid çeşitliliği Kocaeli popülasyonunda görülmüş ve değerleri sırasıyla 0,40 ve 0,00 olarak hesaplanmıştır. Trabzon, Giresun, Ordu, Erzincan, Elâzığ ve Sakarya popülasyonlarının tek tip haplotipten oluştuğu gözlemlenmiş ve haplotip, nükleotid çeşitliliği 0 olarak hesaplanmıştır. Tajima'nın D ve Fu'nun FS testleri, illere ait popülasyonların geçmişi saptamak için tarafsızlık analizi için yapılmıştır. Nötralite testlerinin çoğu (Kırklareli (Krk), Kocaeli (Kce), İstanbul (İst) soyları hariç) sıfır veya negatif sonuç vermiş, ancak değerlerin tamamı istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p > 0,05$) (Tablo 5).

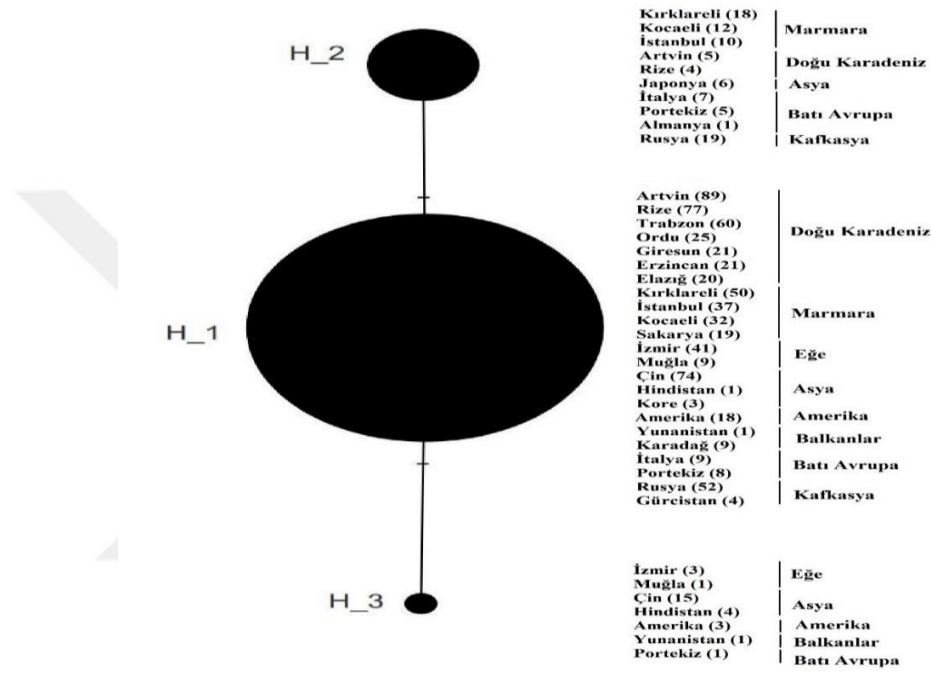
Tablo 5. *Ae. albopictus*'un COI gen dizilerindeki genetik çeşitliliği²

İl	N	S	Pi	Hd	H	Tajima's D testi	FS testi
Artvin (Art)	94	1	0,00	0,10	2	-0,56	-0,41
Rize (Riz)	82	1	0,00	0,09	2	-0,63	-0,52
Trabzon (Trb)	60	0	0	0	1	0	0
Giresun (Grs)	21	0	0	0	1	0	0
Ordu (Ord)	25	0	0	0	1	0	0
Erzincan (Erz)	21	0	0	0	1	0	0
Elazığ (Elz)	20	0	0	0	1	0	0
Kırklareli (Krk)	68	1	0,00	0,39	2	1,11	1,600
İstanbul (İst)	47	1	0,00	0,34	2	0,69	1,150
Kocaeli (Kce)	44	1	0,00	0,40	2	1,06	1,440
Sakarya (Sky)	19	0	0	0	1	0	0
İzmir (İzm)	44	1	0,00	0,13	2	-0,60	-0,300
Mugla (Mgl)	10	1	0,00	0,2	2	-1,11	-0,330
Total	554	2	0,00	0,17	3	-0,00	0,200

Popülasyonlara ait haplotiplerin gösterilişi için haplotip köksüz ağacı Network10.2 software kullanılarak belirlenmiştir. Köksüz ağaçta her daire bir haplotipi temsil etmekte olup her dairenin büyüklüğü haplotiplerin sayılarıyla ilişkilidir. Ayrıca haplotiplerin illere göre frekansları parantez içinde verilmiştir. 3

² N= Birey sayısı, S= Mutasyon sayısı, Pi= Nükleotid çeşitliliği, Hd= Haplotip çeşitliliği, H= Haplotip sayısını ifade etmektedir

Haplotipin frekansları sırasıyla 501, 49 ve 4, hesaplanmıştır. Haplotip 1 (Hap_1) ana haplotip olarak gözlenmiş ve bütün haplotiplerin % 90,43 oluşturduğu saptanmıştır. Haplotip 2 (Hap_2) 5 ilde gözlenmiş (Artvin, Rize, Kırklareli, Kocaeli ve İstanbul) ve bütün haplotiplerin % 8,84 kapsadığı belirlenmiştir. Haplotip 3 (Hap_3) en düşük frekansa sahip olarak gözlenmiş (bütün haplotiplerin % 0,72) ve yalnızca Ege bölgesindeki popülasyonlarda belirlenmiştir (Şekil 9)



Şekil 9. *Ae. albopictus* COI (C1) gen bölgesi haplotiplerinin bölgelere göre dağılımlarını gösteren haplotip ağı

3.4.1. İllere Ait Popülasyonlar Arasındaki İlişki

13 ile ait popülasyonlar arasındaki ilişkiyi belirlemek için çiftli FST mesafe testi uygulanmıştır. Çiftli FST mesafe testi -0,05 ve 0,21 arasında değerler almıştır. En düşük FSt değeri İzmir ve Muğla çiftlerinde gözlemlenmiş ancak bu değerler istatistiksel olarak anlamsız olarak belirlenmiştir. En yüksek FST değeri ise İzmir ve Kocaeli popülasyonları arasında görülmüş ve istatistiksel olarak anlamlı olarak belirlenmiştir. İllere ait popülasyonlar arasındaki ilişki Tablo 6 de verilmiş olup istatistiksel olarak anlamlı değerler bold olarak işaretlenmiştir.

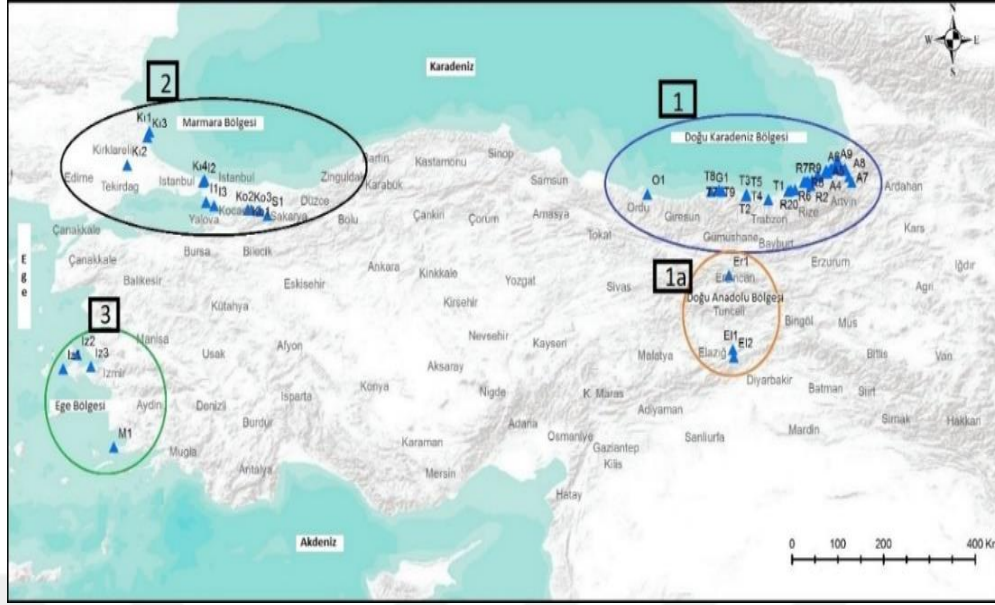
Tablo 6. Mitokondriyal COI dizileri kullanılarak 13 ilin *Ae. albopictus* popülasyonları için farklılıkları³

	Art	Riz	Trb	Grs	Ord	Erz	Elz	Krk	Ist	Kce	Sky	İzm
Art	-											
Riz	-0,01	-										
Trb	0,03	0,02	-									
Grs	0,00	0,00	0,00	-								
Ord	0,00	0,00	0,00	0,00	-							
Erz	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	-						
Elz	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	-					
Krk	0,15	0,15	0,24	0,16	0,17	0,16	0,16	-				
Ist	0,11	0,11	0,22	0,13	0,14	0,13	0,13	-0,01	-			
Kce	0,18	0,18	0,29	0,18	0,20	0,18	0,18	-0,01	-0,01	-		
Sky	-0,00	-0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,15	0,12	0,17	-	
İzm	0,04	0,04	0,06	0,01	0,02	0,01	0,01	0,19	0,15	0,21	0,01	-
Mgl	0,05	0,05	0,24	0,08	0,10	0,07	0,07	0,13	0,10	0,14	0,06	-0,05

3.4.2. AMOVA Analizi

Türün muhtemel Türkiye'ye giriş noktalarını belirlemek için muhtemel 3 alan (Karadeniz, Marmara ve Ege) için AMOVA analizi yapıldı. 13 ile ait popülasyon 3 farklı alan için gruplar arasında farklılık olup olmadığı araştırılmıştır. Doğu Anadolu bölgesine ait Erzincan ve Elâzığ illerine ait popülasyonların Karadeniz kökenli olduğu düşünülerek Karadeniz bölgesine dahil edilmiştir. Yapılan gruplama şekil 10'da harita üzerinde verilmiştir. Gruplar arası varyans bileşen oranı büyük (% 16,98) iken, coğrafi türler içinde gruplar arası oran (% 1,48) coğrafi türler içi (% 81,54) göre düşük bulunmuştur. F-istatistikleri, gruplar arasında ve coğrafi soylar içinde sırasıyla FSC=0,01 ve FCT=0,16 idi ve her ikisi de istatistiksel olarak anlamlı olarak belirlenmiştir. Gruplar içinde coğrafi soylar arasında FST=0,189 idi ve istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır (Tablo 7).

³ İstatistiksel olarak anlamlı değerler koyu renkle işaretlendi.



Şekil 10. İllere göre alanların gruplandırılması

Tablo 7. Coğrafi bölgeler arasında moleküler varyans analizi (AMOVA)⁴

Varyasyonun kaynağı	d.f	Kareler toplamı	Varyans bileşenleri (% varyasyon)	Fiksayon indeksi
Gruplar arasında	2	5,21	0,01 (% 16,98)	FSC 0,01
Gruplardaki popülasyonlarda	10	1,34	0,00 (% 1,48)	FST 0,18
Popülasyonların içinde	540	42,07	0,07 (% 81,54)	FCT 0,16
Toplam varyasyon	552	48,62	0,09	

3.4.3. Coğrafi Bölgelerin Muhtemel Kökenleri

Farklı coğrafi bölgelerdeki 14 ülkeden (Asya, Afrika, ABD, Batı Avrupa, Balkanlar, Türkiye, Kafkasya ve Orta Doğu bölgeleri dahil) elde edilen Genbank örnekleriyle, Türkiye'deki üç bölgesel popülasyonun olası kökenini belirlemek için Fst testi kullanılarak karşılaştırılmıştır. Marmara popülasyonu Ege ve Karadeniz soylarından farklı bulunmuş ve bu fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p < 0,05$). Türkiye'den elde edilen popülasyonlar ile Asya soyları arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuş ve en düşük fark değerleri Türkiye (Karadeniz, Marmara ve Ege) ve Çin soyları arasında gözlenmiştir (farklar sırasıyla 0,09, 0,06 ve 0,03). Afrika (Fas ve Kongo) örnekleri ile Türkiye soyları arasındaki fark anlamsız olarak belirlenmiştir (Marmara ve Kongo çiftleri hariç). Marmara ve Kongo çifti

⁴ İstatistiksel olarak anlamlı değerler koyu renkle işaretlendi. df serbestlik derecesini ifade etmektedir.

arasındaki fark oldukça düşük ve değer 0,03 ($p < 0,05$) olarak gözlenmiştir. ABD soyları ile Türkiye bölgesel soyları arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuş ve en düşük fark Ege popülasyonları arasında görülmüştür ($F_{st}=0,04$, $p < 0,05$). Batı Avrupa popülasyonları, Alman soyu hariç, Türkiye bölgesel soylarından istatistiksel olarak farklı bulunmuştur. Alman soyunun Türkiye'deki üç bölgesel soyla da yakından ilişkili olduğu gözlenmiştir. Karadağ ve Karadeniz soyları arasındaki fark ise istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p < 0,05$). Diğer çiftler arasındaki fark çok düşük olarak gözlenmiş ve istatistiksel olarak anlamsız bulunmuştur. Sonuçlarımız, Gürcü ve Türk soyları arasındaki farkın önemsiz olmasına rağmen, Rusya ve Türkiye soyları arasındaki farkın önemli olduğunu göstermiştir. Türkiye'de her üç bölgesel soy da Orta Doğu soylarından istatistiksel olarak farklılık göstermiştir (Tablo 8).

Tablo 8. Mitokondriyal COI dizileri kullanılarak Türkiye'deki ve dünyanın farklı yerlerindeki üç bölgesel soy arasındaki farklılıklar⁵

Bölgesel Soylar (n)	Hn	Cografya	Karadeniz	Marmara	Ege
Karadeniz (322)	2		0,00		
Marmara (177)	2	Türkiye	0,04	0,00	
Ege (54)	2		0,00	0,04	0,00
Hindistan (7)	3		0,61	0,32	0,38
Japonya (27)	7		0,43	0,21	0,18
Kore (38)	20	Asya	0,72	0,56	0,43
Çin (143)	54		0,09	0,06	0,03
Pakistan (249)	9		0,84	0,79	0,75
İran (4)	2		0,58	0,23	0,68
Fas (3)	1	Afrika	-0,18	-0,14	0,00
Kongo (29)	2		0,01	0,03	0,02
USA (92)	32	USA	0,12	0,08	0,04
Portekiz (16)	2		0,60	0,20	0,48
Almanya (11)	1	Batı Avrupa	-0,03	0,00	0,00
Avusturya (4)	2		0,85	0,58	0,87
İtalya (14)	3		0,83	0,55	0,68
Karadağ (12)	2	Balkanlar	0,11	0,04	0,16
Yunanistan (3)	1		-0,18	-0,14	0,00
Gürcistan (4)	1	Kafkasya	-0,13	-0,08	0,00
Rusya (69)	4		0,24	0,06	0,12

⁵ İstatistiksel olarak anlamlı değerler koyu renkle işaretlendi. N=birey sayısı. Hn= Haplotip sayısını ifade etmektedir.

3.5. *Ae. aegypti* için Moleküler Analizler ve Genetik Yapı

3.5.1. Gen Bölgelerine Göre *Ae. aegypti*'nin Varyasyonu

mtDNA COI (C1) gen bölgesi için 30 örnek Türkiye'den ve 12 örnek Gürcistan'dan (çalışmada kullanılan bütün gen bölgeleri için aynı *Ae. aegypti* örnekler kullanılmıştır) PZR işlemi için yapılmıştır. Çalışmada COI (C1) gen bölgesi için jel görüntülerinden yaklaşık 600- 650 bp arası görüntü elde edilmiştir (Şekil 8). Dizilenen bu gen bölgesi için dizi temizleme işlemi sonrasında işlenmiş 632 bp diziler elde edilmiştir. Gen bölgesi 3 farklı mutasyon noktasından köken alan 4 haplotip oluşturmuştur (Tablo 10). Dizilerin haplotip ve nükleotid çeşitlilikleri sırasıyla 0,57 ve 0,00 olarak hesaplanmıştır (Tablo 9).

Çalışmada kullanılan diğer COI (C2 olarak kodlanan) gen bölgesi için jel görüntülerinde 450-500 bp arası görüntüler elde edilmiştir. Dizilerin temizleme ve kırpma işlemi sonrasında 483 bp net nükleotid dizileri elde edilmiştir. Haplotip analizlerinde gen bölgesi 3 mutasyon noktası ile ilişkili 4 haplotip elde edilmiştir (Tablo 10). Kullanılan örneklerin hesaplanan haplotip ve nükleotid çeşitlilikleri 0,57 ve 0.00 olarak hesaplanmıştır (Tablo 9).

Tablo 9. *Ae. aegypti* elde edilen sekans dizilerinin genel bilgileri⁶

Gen kodu	Gen tipi	Pi	H	Hd	bp	S	N
C1	Mitokondriyal	0,00	4	0,57	632	3	42
C2	Mitokondriyal	0,00	4	0,57	483	3	42
N4	Mitokondriyal	0,00	2	0,48	410	1	42
N5	Mitokondriyal	0,00	2	0,48	414	1	42
I2	Nüklear	0,00	6	0,46	267	3	42
Total	Kombine	0,00	6	0,72	2206	15	42

ND4 ve ND5 gen bölgeleri için sırasıyla jel görüntülerinden 400- 450 bp'lik jel görüntüleri elde edilmiştir. Dizilerin temizlenmesi sonucunda ND4 ve ND5 gen bölgeleri için sırasıyla 410 ve 414 bp'lik nükleotid dizileri elde edilmiştir. Her iki gen bölgesi de 1 mutasyon noktasına bağlı olarak iki haplotip oluşturmuştur (Tablo 10). ND4 gen bölgesi için elde edilen haplotip çeşitliliği 0,48 ve nükleotid çeşitliliği 0,01

⁶ N =Birey sayısı, S=Mutasyon sayısı, pi=Nükleotit çeşitliliği , Hd=Haplotip çeşitliliği, H=Haplotip sayısını ifade etmektedir.

olarak hesaplanmıştır. ND5 gen bölgesi için haplotip ve nükleotid çeşitlilikleri sırasıyla 0,48 ve 0,00 olarak hesaplanmıştır. (Tablo 9).

Tablo 10. *Ae. aegypti* için beş gen bölgesinde belirlenen mutasyon noktaları

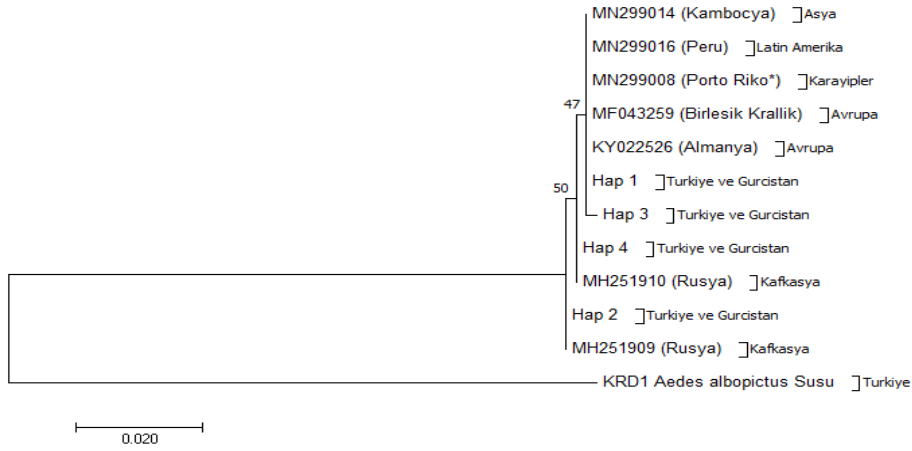
	1	4	2	3	4	1	3	1	1	1	1	2	
	4	8	5	4	1	7	5	9	0	2	8	8	6
	8	9	0	5	0	8	0	6	2	5	2	3	0
	C1			C2			N4	N5	I2				
R5-1	C	T	G	C	C	C	T	C	C	A	-	-	A
R5-2	-	-	.
R5-3	-	-	.
A1-1	G	T	.
A1-2	-	-	.
A1-3	-	-	.
A3-1	T	.	.	T	.	.	C	T	.	G	G	T	.
A3-2	.	.	A	.	T	.	C	T	.	.	A	T	.
A3-3	.	.	A	.	T	.	C	T	.	.	A	T	.
R4-1	G	-	-	C
R4-2	-	-	.
R4-3	-	-	.
A2-1	T	.	.	T	.	.	C	T	.	G	G	T	.
A2-2	-	-	.
A2-3	-	-	.
R1-1	G	-	-	C
R1-2	-	-	.
R1-3	-	-	.
R2-1	-	-	.
R2-2	-	-	.
R2-3	-	-	.
R3-1	-	-	.
R3-2	-	-	.
R3-3	-	-	.
A5-1	-	-	.
A5-2	-	-	.
A5-3	-	-	.
A4-1	T	C	.	T	.	A	C	T	T	.	-	-	.
A4-2	G	T	.
A4-3	.	.	A	.	T	.	C	T	.	.	A	T	.
GeoK1-1	T	.	.	T	.	.	C	T	.	G	G	T	.
GeoK1-2	G	T	.
GeoK1-3	.	.	A	.	T	.	C	T	.	.	A	T	.
GeoB1-1	T	C	.	T	.	A	C	T	T	.	-	-	.
GeoB1-2	G	-	C
GeoB1-3	.	.	A	.	T	.	C	T	.	.	A	T	.
GeoP1-1	T	.	.	T	.	.	C	T	.	G	G	T	.
GeoP1-2	T	.	.	T	.	.	C	T	.	G	G	T	.
GeoP1-3	.	.	A	.	T	.	C	T	.	.	A	T	.
GeoT1-1	T	.	.	T	.	.	C	T	.	G	G	T	.
GeoT1-2	T	.	.	T	.	.	C	T	.	G	G	T	.
GeoT1-3	.	.	A	.	T	.	C	T	.	.	A	T	.

Ae. aegypti için çoğaltılan ITS 2 (I2) gen bölgesinin bazı dizilerinde 2 bazlık bir delesyon olduğu gözlenmiştir (Tablo 10). Bu delesyon noktası farklılık olarak kabul edildiğinde 6 mutasyon noktasına ait toplam 6 haplotip elde edilmiştir. Diğer yandan bu delesyon noktaları çalışmadan uzaklaştırıldığında toplam 3 mutasyon

noktasına ait 4 haplotipin varlığı belirlenmiştir. ITS gen bölgesine ait dizilerden 265 bp'lik nükleotid dizisi elde edilirken bu sayı delesyon noktalarıyla birlikte 267 ye çıkmıştır. Elde edilen sekansların haplotip ve nükleotit çeşitlilikleri sırasıyla 0,46 ve 0.00 olarak hesaplanmıştır (Tablo 9).

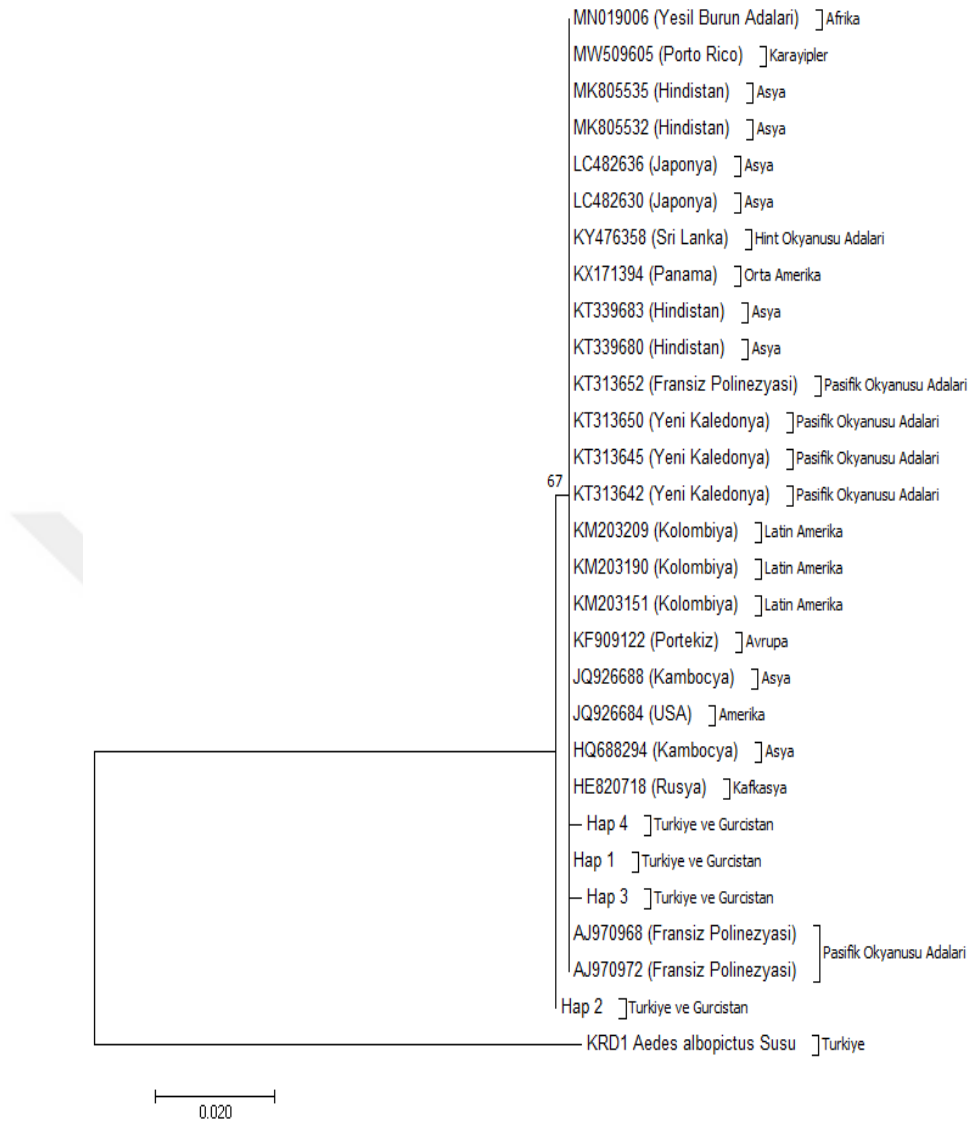
3.5.2. Gen Bölgelerine Ait Dizilerin Filocografik Analizi

Türkiye ve Gürcistan'dan elde edilen *Ae. aegypti* mtCOI'nin (C1) gen bölgesinden ortaya çıkan haplotipler kullanılan oluşturulan Maximum likelihood (ML) filogenetik ağacında haplotipler tek grup üzerinde dört moleküler alt grup olarak ayrılmıştır. Bu gruplar düşük bootstrap değerleriyle desteklenmiştir. Elde edilen gruplarda Hap_1 Asya (Kamboçya), Amerika (Peru), Karayipler (Porto Riko (laboratuar soyu) ve Avrupa'dan (Birleşik Krallık ve Almanya) örneklerle kümelenmiştir. Hap_3 herhangi bir örnekle kümelenmemiştir. Diğer yandan Hap_2 ve Hap_4 Kafkasya (Rusya) örnekleriyle iki ayrı kol altında kümelenmiştir (Şekil 11).



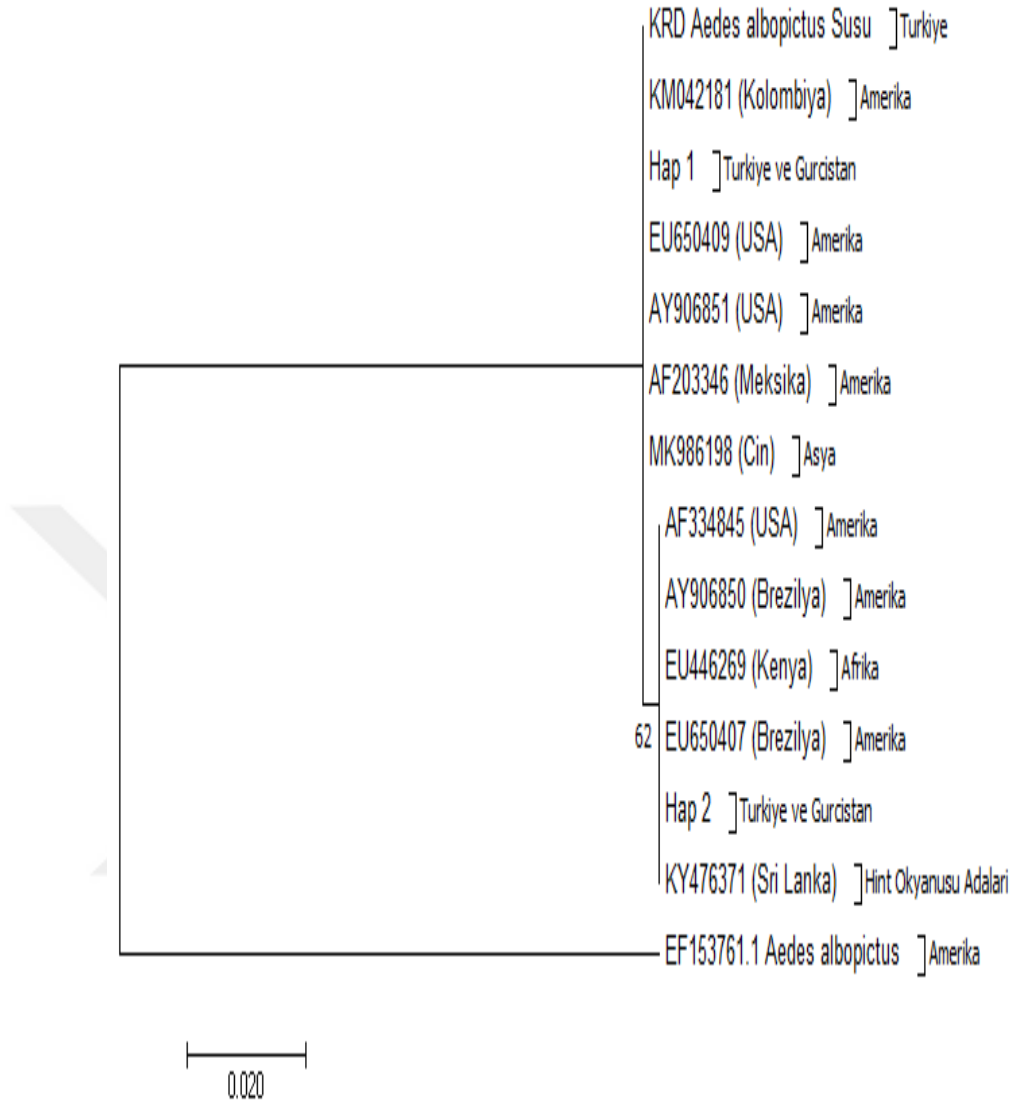
Şekil 11. *Ae. aegypti*, COI (C1) için Maximum likelihood filogenetik ağacı

MtCOI (C2) için oluşturulan Maximum likelihood (ML) filogenetik ağacında haplotipler 2 dal altında tek bir grup oluşturmıştır. Oluşan bu gruplarda Hap_1 Asia (Japonya, Hindistan, Viet Nam, Kamboçya), Hint Okyanusu Adaları (Sri Lanka), Orta Amerika (Panama), Pasifik Okyanusu Adaları (Fransız Polinezyası, Yeni Kolodonya), Latin Amerika (Colombiya), Avrupa (Portekiz), Kafkasya (Rusya), ve Afrika (Yeşil Burun Adaları) örnekleriyle örtüşürken Hap_3 ve Hap_4 bu dal üzerinde herhangi bir örnekle örtüşmemiştir. Hap_2 ise tek basına ayrı bir dal oluşturmıştır (Şekil 12).



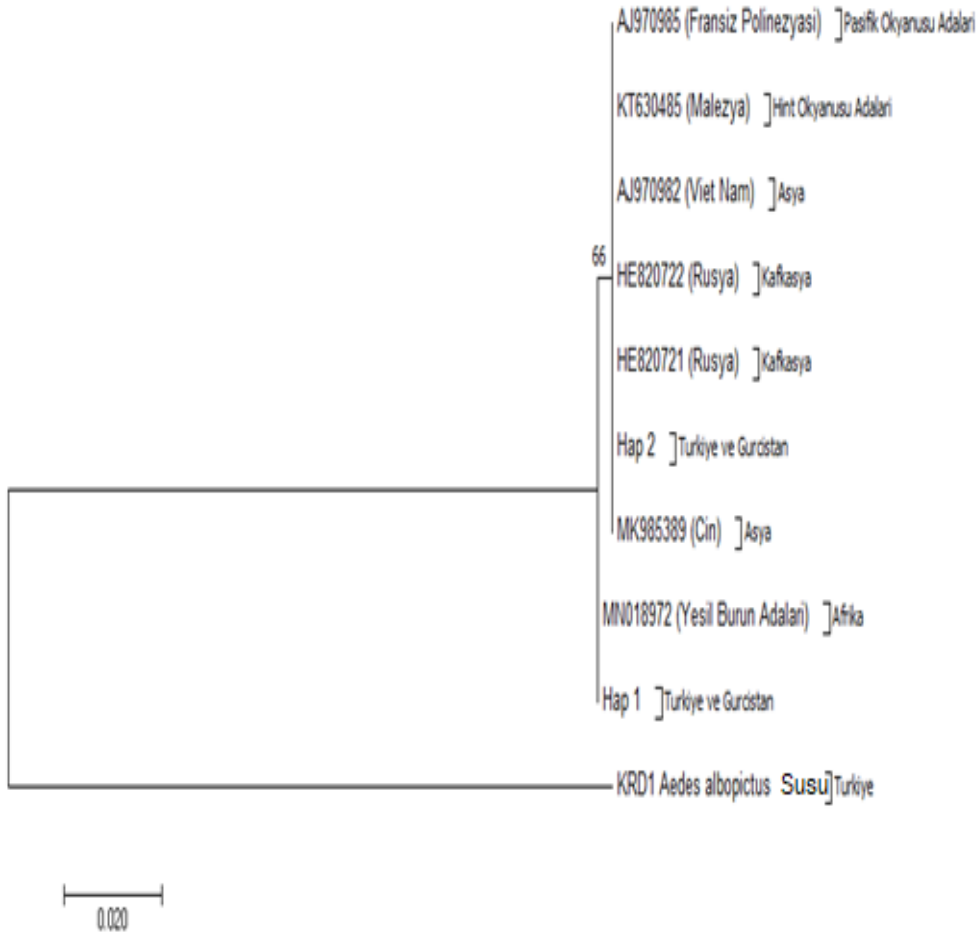
Şekil 12. *Ae. aegypti*, COI (C2) için Maximum likelihood filogenetik ağacı

ND4 sekans dizileri kullanılarak oluşturulan Maximum Likelihood (ML) filogenetik ağaçlarında iki haplotip tek dal üzerinde iki farklı dal oluşturmuştur. Hap_1 Asya (Çin), Amerika (Meksika, Kolombiya) örnekleriyle örtüşmüştür. Bunun yanında dış grup olarak KRD1 *Ae. albopictus* örnekleri de Hap_1 örnekleriyle birebir örtüşmüştür. Ancak grupların net olarak ayrışması için gen banktan elde edilen EF153761 Genbank numaralı *Ae. albopictus* örneği kullanılmıştır. Hap_2 haplotipi ise diğer dal üzerinde Hint Okyanusu Adaları (Sri Lanka), Amerika (Brezilya, Meksika) örnekleriyle örtüşmüştür (Şekil 13).



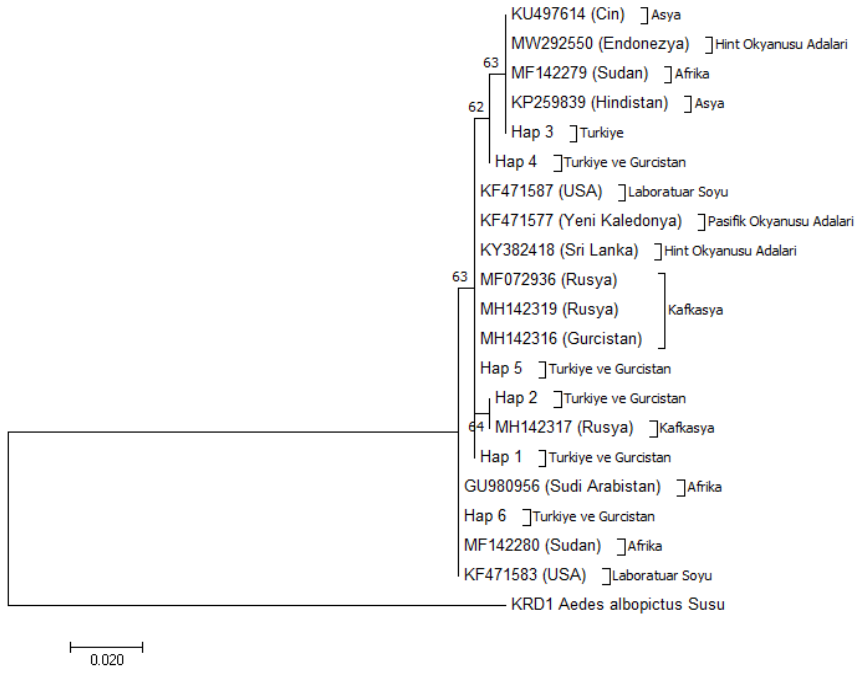
Şekil 13. *Ae. aegypti*, ND4 (N4) için Maximum likelihood filogenetik ağacı

Elde edilen ND5 dizileri kullanılarak *Ae. aegypti* türü için oluşturulan Maximum Likelihood (ML) filogenetik ağacı tek bir dal üzerinde iki farklı grup oluşturmuştur. Birinci grup Hap_1 ve Afrika (Yeşil Burun Adaları) örneklerini içerisinde barındırırken Hap 2 ise Hap_1'in bulunduğu dal üzerinde yeni bir dal oluşturarak Asya (Vietnam), Kafkasya (Rusya), Hint okyanusu adaları (Malezya) ve Pasifik Adaları (Fransız Polinezya'sı) örnekleriyle örtüşmüştür (Şekil 14).



Şekil 14. *Ae. aegypti*, ND5 (N5) için Maximum likelihood filogenetik ağacı

Genomik ITS2 (I2) gen bölgesi için elde edilen haplotipler, Maximum Likelihood (ML) filogenetik ağacında hiyerarşik olarak dört daldan oluşmuştur. Bu dallar orta düzeyde bootstrap değerleri ile desteklenmiştir. Hap_6, ABD (Laboratuvar Soyu), Afrika (Suudi Arabistan, Sudan) örnekleri ile kümelenmiştir. Hap_1 ve Hap_5, Kafkasya (Rusya, Gürcistan), ABD (laboratuvar soyu), Pasifik Okyanusu adaları (Yeni Kaledonya) ve Asya (Hindistan) örnekleri ile kümelenmiştir. Hap_2, Hap_1 ve Hap_5'in bulunduğu dalın altında Kafkasya örneği ile küçük bir dalda bulunmuştur. Hap_4 üçüncü dalda tek başına belirtilmiş ve herhangi bir örnekle örtüşmemiştir. Son olarak Hap_3 Asya (Hindistan ve Çin), Afrika (Sudan), ve Hint Okyanusu adaları (Endonezya) örnekleriyle ağacın en ucunda yer almıştır. (Şekil 15).



Şekil 15. *Ae. aegypti*, ITS2 (I2) için Maximum likelihood filogenetik ağacı

3.5.3. *Ae. aegypti*'den Elde Edilen Dizilerin Konbinasyonları ile Elde Edilen Sonuçlar

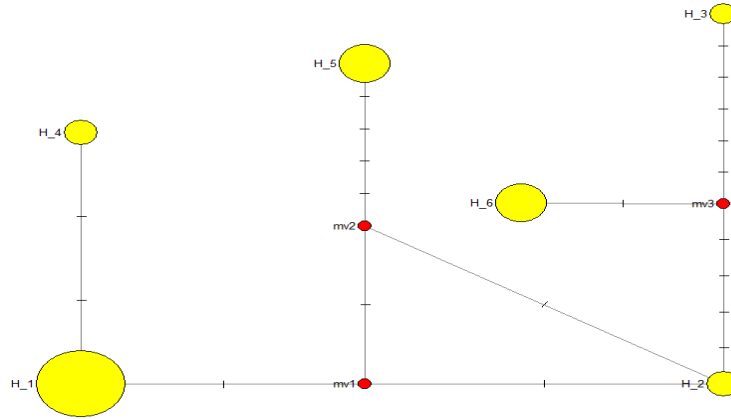
Ae. aegypti için elde edilen dört mitokondriyal ve bir genomik gen bölgesi daha duyarlı sonuçlar elde etmek için popülasyon karşılaştırmasında kullanılmıştır. Öncelikle gen bölgelerinin birbirleriyle uyumlulukları belirlemek için Paup 4. 0 software programı altında yer alan parçalı homojenite testi dizilerin birlikte kullanılabilirliğini göstermiştir ($p < 0,05$). Bu sebeple iki ülke popülasyonları arasındaki farkın varlığı ve bu farkın kaynağının belirlenmesi işlemi kombine diziler kullanılarak yapılmıştır.

Kombine analizlerde kullanılan diziler toplamda 2206 bp'lik bir dizi oluşturulmuştur. Bu dizi bütün bölgeler için toplamda 6 haplotip üretmiştir. Bu haplotipler arasında Hap_1 en baskın haplotip olarak belirlenmiş ve bu haplotip yalnızca Artvin ve Rize popülasyonlarında belirlenmiştir. Hap_3 ün seyrek bir haplotip olduğu gözlenmiş olup Artvin ve Batum popülasyonlarında belirlenmiştir (Tablo 11). Ayrıca haplotiplerin ilişkileri belirlemek için köksüz haplotip ağı ağacı çizilmiştir. Çizilen bu köksüz ağaçta her haplotip daire olarak gösterilmiş ve dairenin büyüklüğü haplotip frekansları ile ilişkidir. Ağaçta tire olarak gösterilen alanlar haplotipleri

arasındaki mutasyon farklılıklarını ifade etmektedir. Kırmızı renkte gösterilen daireler ise olası haplotipleri temsil etmektedir (Şekil 16).

Tablo 11. Kombine haplotiplerin frekansları ve dağılımları

Haplotipler	Rize	Artvin	Batum	Keda	Kobi	Tiflis	Frekanslar
Hap_1	13	7	0	0	0	0	20
Hap_2	0	2	0	1	0	0	3
Hap_3	0	1	1	0	0	0	2
Hap_4	2	0	1	0	0	0	3
Hap_5	0	3	1	1	1	1	7
Hap_6	0	2	0	1	2	2	7
Frekanslar	15	15	3	3	3	3	42



Şekil 16. Kombine sekanslardan elde edilen 6 haplotipin ilişkileri

3.5.3.1. Kombine Sekanslara Göre Popülasyonlar Arasındaki İlişkiler

Türkiyeden Artvin ve Rize popülasyonları Gürcistan'dan Batum, Keda, Kobi ve Tiflis popülasyonları arasındaki ilişkiler Fst mesafe testi kullanılarak belirlenmiştir. Popülasyonlar arasındaki Uzaklık değerleri 0, 84 ve -0,50 arasında değişmiştir (Tablo 12). Rize popülasyonu diğer popülasyonlardan en farklı olan popülasyon olarak belirlenmiş ve elde edilen farklılıklar $p < 0,05$ düzeyinde anlamlı bulunmuştur. Diğer yandan Artvin-Khobi ve Artvin-Tiflis çiftleri arasındaki fark aynı olarak gözlenmiş ve fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur. Diğer çiftler arasındaki fark negatif olup (bu da sıfır kabul edilir) ve istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p > 0,05$) (Tablo 10).

Tablo 12. Kombine sekanslara göre 6 popülasyon arasındaki farklar⁷

	Rize	Artvin	Batum	Keda	Kobi
Rize					
Artvin	0,23				
Batum	0,52	-0,06			
Keda	0,72	-0,02	-0,16		
Kobi	0,84	0,21	-0,03	-0,27	
Tiflis	0,84	0,21	-0,03	-0,27	-0,50

3.5.3.2. Türkiye ve Gürcistan örnekleri arasındaki AMOVA analizi

Türkiye ve Gürcistan popülasyonları arasında fark olup olmadığı belirlenmek için AMOVA testi uygulanmıştır (Tablo 12). Yapılan analizde popülasyonlar içindeki varyasyon yüksek (% 59,27) bulunurken gruplar arasındaki varyasyon düşük (% 8,47) bulunmuştur. Gruplar arasındaki farkı gösteren FSC, gruplar içindeki popülasyonlar arasındaki farkı gösteren FST ve popülasyonlar arasındaki farkı gösteren FCT, F istatistiği değerleri ise sırasıyla 0,12, 0,40 ve 0,32 olarak bulunmuştur. Ancak elde edilen bütün değerler istatistiksel olarak anlamsız bulunmuştur (Tablo 13).

Tablo 13. Türkiye ve Gürcistan örnekleri arasındaki AMOVA analizi ve fiksasyon indeksi⁸

Varyasyonun kaynağı	d.f	Kareler toplamı	Varyans bileşenleri (% varyasyon)		Fiksasyon indeksi
			Kareler toplamı	bileşenleri (% varyasyon)	
Gruplar arasında	1	17,21	0,83	(% 32,26)	FSC 0,12 (NS)
Gruplardaki popülasyonlarda	4	11,36	0,21	(% 8,47)	FST 0,40 (NS)
Popülasyonların içinde	36	55,06	1,52	(% 59,27)	FCT 0,32 (NS)
Toplam varyasyon	41	83,64	2,58		

⁷ İstatistiksel olarak anlamlı değerler koyu renkle işaretlendi.

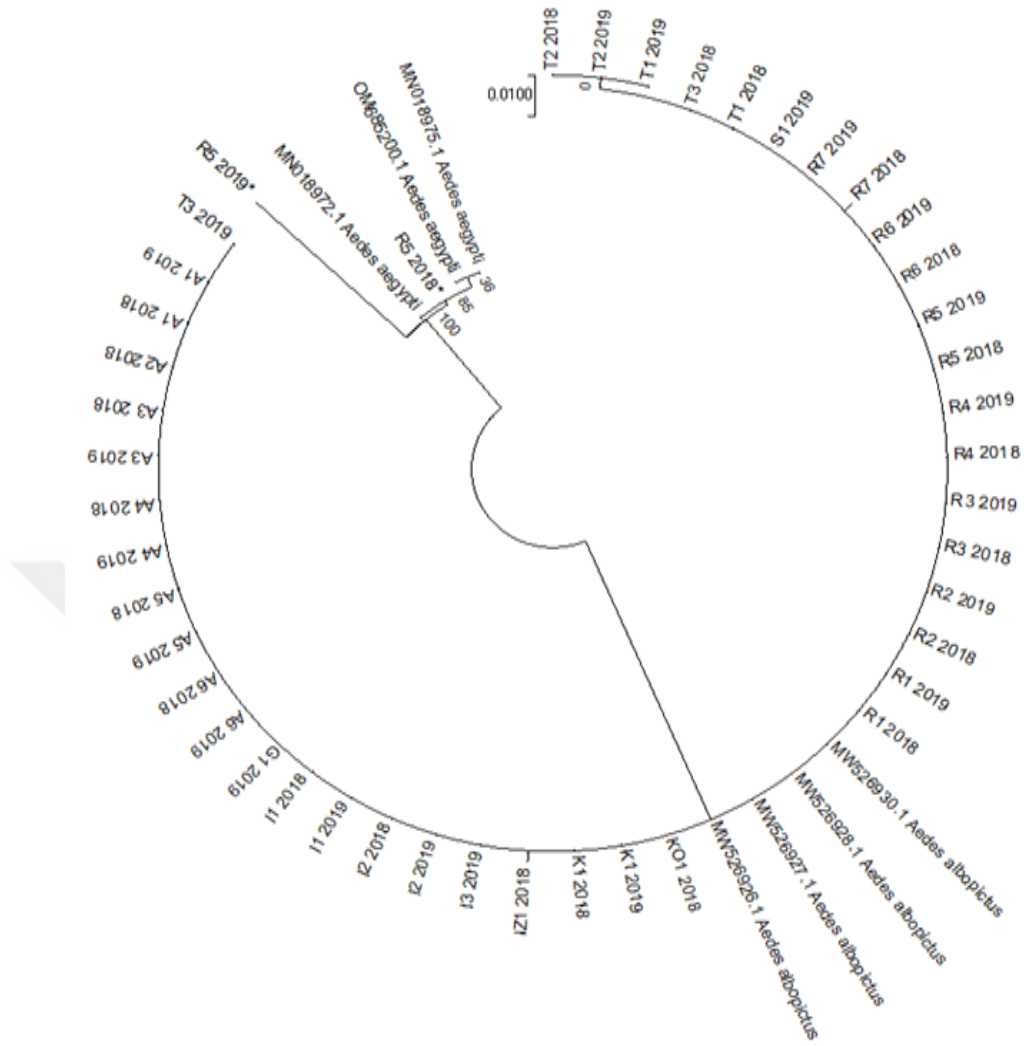
⁸ NS istatistiksel olarak anlamsız değerleri ifade etmektedir.

3.6. Virüs Taramalarından Elde Edilen Bulgular

3.6.1. Havuzlara Ait Örneklerin Moleküler Doğrulaması ve ND5 (N5) Varyasyonu

2018 ve 2019 yılları içinde ergin olarak toplanan *Ae. albopictus* ve *Ae. aegypti* örnekleri kuru buz üzerinde morfolojik tür tayinleri yapıldıktan sonra örneklerin moleküler olarak tanımlama işlemi ND5 gen bölgesi PZR işlemi kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Havuzlardan elde edilen diziler öncelikle Genbank'ta blast edilerek morfolojik tanımlama ile % 97 ve üzeri benzerlik gösteren diziler doğru tanımlama olarak kabul edilmiştir. Toplamda 44 sivrisinek havuzundan her iki yıl için 21 *Ae. albopictus* havuzu ve bir *Ae. aegypti* havuzu için moleküler doğrulama gerçekleştirilmiştir. Her iki tür için ND5 gen bölgesi için 371 bp'lik nükleotid dizileri elde edilmiştir. *Ae. albopictus* için diziler bir mutasyon bölgesine sahip olarak bulunmuştur. Hamidiye 2018 havuzunda 1 tane heterozigot mutasyon belirlenmiştir. *Ae. albopictus* için toplamda 2 haplotip bulunmuştur. Toplam dizilerin haplotip ve nükleotid çeşitlilikleri sırasıyla 0,00 ve 0,00 olarak belirlenmiştir. *Ae. aegypti* örnekleri ise tek bir sekans dizisi içerdiğinden haplotip ve nükleotid çeşitliliği hesaplanamamıştır.

Elde edilen diziler GenBank'ta en fazla benzerlik gösteren gen bank örnekleri (OM685200, MN018972.1, MN018975 (*Ae. aegypti*) ve MW526926-28, MW526930 (*Ae. albopictus*) kullanılarak MEGA 7 programında maximum likelihood (ML) filogenetik ağacı elde edilmiştir. Elde edilen diziler ve genbank örnekleri için en uygun model seçimi jModelTest programı tarafından belirlenen Tamura 3 parametresi (T92) kullanılarak çizilmiştir (Şekil 17).



Şekil 17. Moleküler doğrulama için kullanılan ND5 gen bölgesi filogenetik ağacı

3.6.2. Sivrisinek havuzları

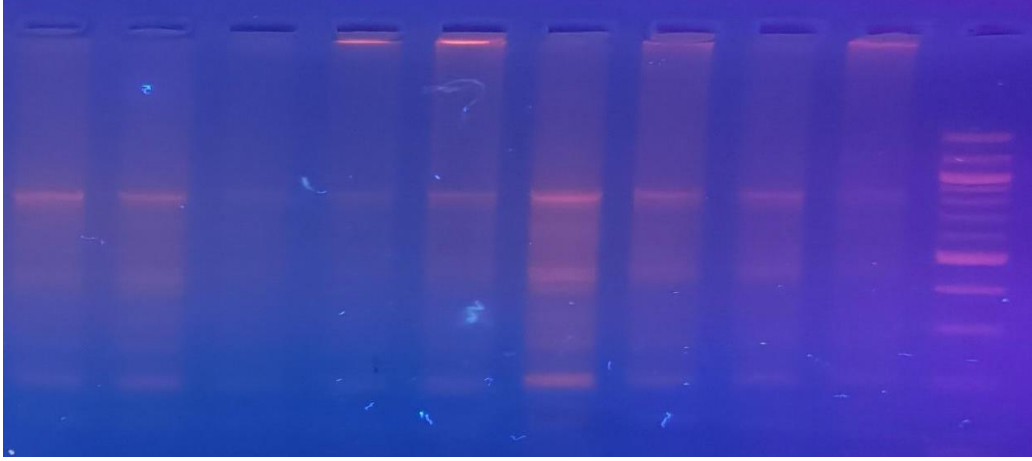
9 ile ait 24 noktadan toplanan 3176 *Ae. albopictus* ve *Ae. aegypti* örneğinden 141 sivrisinek havuzu hazırlanmıştır. Havuzlar toplanan lokasyon, toplanma yılı ve türlere göre yapılmıştır. 2018 yılı için 46 havuz ve 2019 yılı için 95 havuz oluşturulmuştur. Oluşturulan havuzların % 99,50'sini *Ae. albopictus* havuzları oluşturulmuş, *Ae. aegypti* ise tek bir bölgeden ve elde edilen tek bir havuzdan oluşmuştur. Oluşturulan havuzlar tablo 13 de verilmiştir.

Tablo 14. Örnekleme yerlerine ve toplama yıllarına göre havuzlar

Havuz kodu	Örnek sayısı		Havuz büyüklüğü (A)		Pozitif havuzlar(B)				Pozitif havuz oranı (B/A*100)	
	2018	2019	2018	2019	2018	Virus	2019	Virus	2018	2019
R1	121	326	4	9	x	x	x	x	0	0
R2	66	201	2	7	1	WNV	3	WNV	50	42,85
R3	76	215	3	8	x	x	x	x	0	0
R4	19	58	2	5	x	x	x	x	0	0
R5*	3	12	2	3	x	x	x	x	0	0
R5	30	58	2	3	x	x	x	x	0	0
R6	30	166	2	6	x	x	x	x	0	0
R7	55	81	2	3	x	x	1	WNV	0	33,33
A1	109	157	4	6	x	x	1	AEFV	0	33,33
A2	24	0	2	0	x	x	x	WNV	0	0
A3	107	252	4	8	2	AEFV	5	AEFV	50	62,50
A4	30	132	2	5	x	x	1	CFAV	0	12,50
A5	53	55	2	3	x	x	x	x	0	0
A6	38	52	2	3	x	x	x	x	0	0
T1	27	131	2	6	x	x	x	x	0	0
T2	15	53	2	3	x	x	x	x	0	0
T3	24	49	2	3	x	x	x	x	0	0
KO1	25	0	1	0	x	x	x	x	0	0
I1	4	57	1	2	x	x	1	WNV	0	50
I2	28	45	1	2	x	x	1	AEFV	0	50
I3	0	78	0	2	x	x	x	x	0	0
K1	17	58	1	2	x	x	2	WNV	0	100
G1	0	30	0	4	x	x	x	x	0	0
S1	0	5	0	2	x	x	x	x	0	0
İz1	4	0	1	0	x	x	x	x	0	0
Toplam	905	2271	46	95	3	2	17	3	6,522	17,89

3.6.3. Sivrisinek havuzlarında tanımlanan virüs dizileri

Pozitif diziler, GenBank'ta BLASTn ve BLASTn (MEGABLAST) algoritmalarına göre tanımlanmıştır. % 97 veya daha fazla benzerliğe sahip diziler, eşleşen örnekle aynı şekilde değerlendirilmiştir. *Ae. aegypti* toplam havuzun % 3,54'ünü içermektedir. *Ae. albopictus*, 2018 ve 2019 yıllarında tüm pozitifler dahil olmak üzere diğer tüm havuzları (yaklaşık 96,46) oluşturmuştur. Elde edilen birinci aşamadaki 1385 bp'lik pozitif flavivirüs fragmanı ve ikinci adımda düzeltilen 143 bp'lik pozitif flavivirüs fragmanı, % 2 agaroz jel üzerinde çalışma için kullanılmıştır (Şekil 18). Alfavirüs ve flebovirüs örnekleri için pozitif örnek bulunamamıştır.



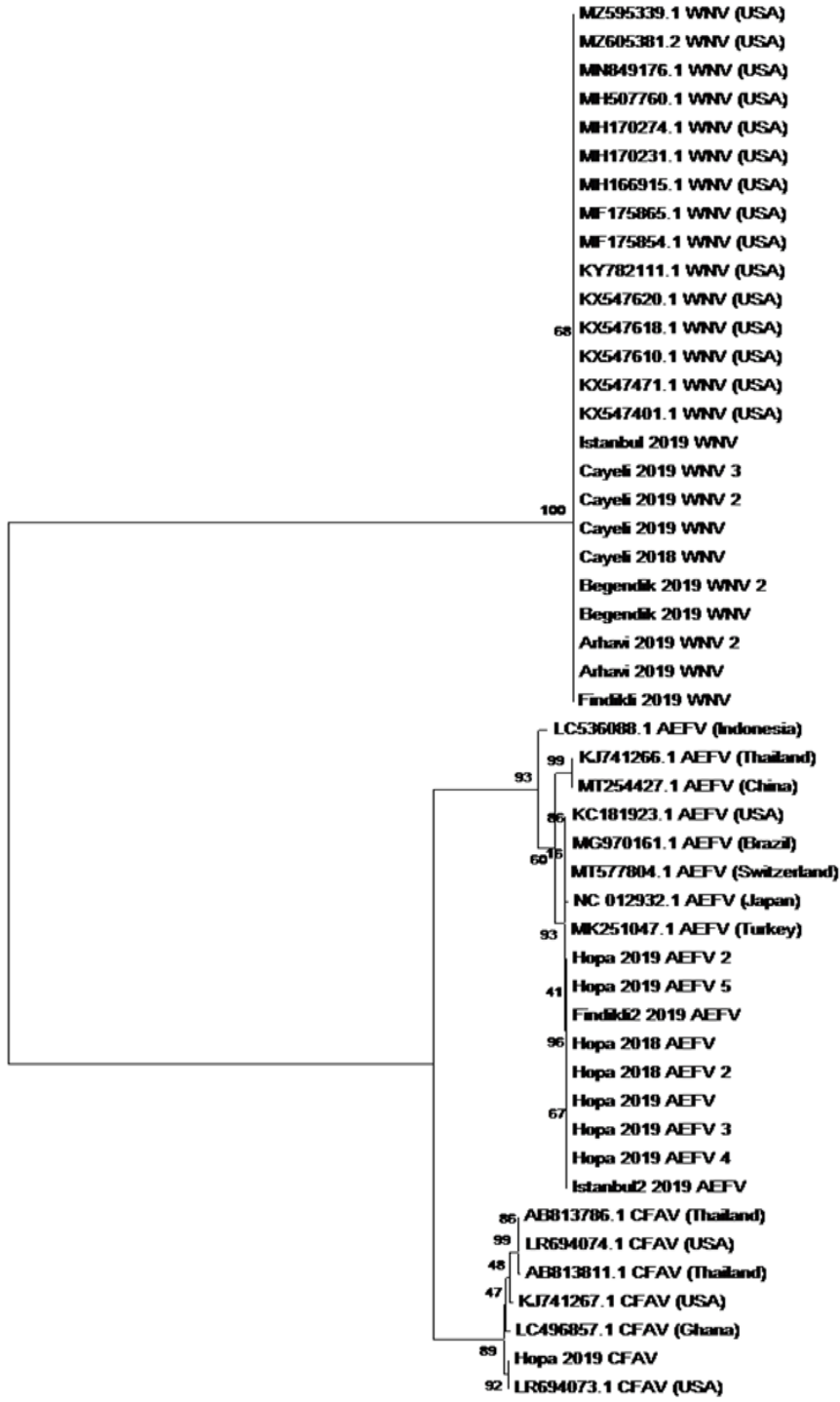
Şekil 18. Filavivürüs pozitif çıkan bazı örneklerin jel görüntüsü

2018 yılında 46 havuzda bir BNV ve iki AEFV olmak üzere 3 pozitif havuz tespit edilmiştir. Bu pozitif havuzlar; Hopa'da iki havuzda Ae. flavivirus (AEFV) ve Çayeli'nde bir havuzda Batı Nil virüsü olarak belirlenmiştir (Tablo 13, Şekil 19).

2019 yılında 95 havuzda 17 pozitif havuzda üç virüs türü tespit edilmiştir. Bu pozitif havuzlar Çayeli, Fındıklı, Arhavi, İstanbul adalar olmak üzere toplam yedi pozitif havuz bulunmuştur (Tablo 3). 2019 yılında Fındıklı (R7) ve İstanbul adalar (I1) bölgelerindeki iki havuzda Ae. flavivirus pozitif örnekleri belirlenmiş olup, bölge havuzlarında pozitiflik oranları sırasıyla % 33, % 33 ve % 50 olarak hesaplanmıştır. Cell fusing agent Hopa'da (A3) sadece bir havuzda bulunmuş ve bölgesel havuzlarda pozitiflik oranı % 12,50 olarak hesaplanmıştır (Tablo 14, Şekil 19).

Elde edilen pozitif örneklerden toplamda 781 bp'lik fragman elde edilmiştir. Pozitif flavivirüs numuneleri için filogenetik analiz, K2+G+I yöntemine dayalı Maksimum olasılık kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

Elde edilen Batı Nil virüsü örneklerinin tamamı Amerika örnekleri ile yüksek benzerlik göstermiştir. Bu parçalar kullanılarak, maksimum olabilirlik ağaçları orta bootstrap değeri (% 68) ile desteklenmiştir. Ae. filavivirus örnekleri aynı dal üzerinde farklı dallara ayrılmıştır. Örnekler, farklı bootstrap değeri dereceleriyle Asya, Amerika ve Avrupa'daki örneklere benzerlik göstermiştir. Hücre kaynaştırıcı ajan örnekleri, Amerika örnekleri ile örtüşmüştür (Şekil 19).



Şekil 19. Filavivürüs sekansları ile hazırlanan maksimum likelihood ağacı (K2+G+I yöntemi).

4. TARTIŞMA

Geçmiş yüzyılın son çeyreğinden bu yana artan ulaşım imkanları, artan küresel ticaret ve küresel iklim değişikliği ile birlikte başta *Ae. albopictus* ve *Ae. aegypti* olmak üzere pek çok sivrisinek türü buldukları alanlardan dünyanın farklı bölgelerine yayılmaya başlamıştır (Kraemer vd., 2015). Bu türlerin yayılım alanlarını genişletmesi deng, zika, chikungunya ve sarı humma gibi hastalıklar dünya çapında görülmeye başlanmış ya da yeniden ortaya çıkmıştır (Wilder-Smith vd., 2017). Deng humması bu hastalıklar arasında en geniş kitlelere ulaşmış ve günümüzde başta Afrika kıtası olmak üzere yılda yaklaşık dört yüz milyona ulaşan vaka rapor edilmiştir. 2000’li yıllara kadar Afrika ve Asya kıtasında sınırlı alanda ara sıra epidemilere neden olan chikungunya 2000’li yıllardan sonra Afrika, Avrupa ve Amerika kıtalarında 110’dan fazla ülkede görülmeye başlamıştır (Zeller vd.,2016; WHO, 2022). Sarı humma, geçmişte Afrika ve Güney Amerika'nın tropikal bölgelerinde endemik olarak görülmektedir. Ancak 17-19. yüzyıllarda Kuzey Amerika ve Avrupa'ya taşınarak salgınlara neden olmuştur. Günümüzde etkili aşı geliştirilmesine rağmen halen eradike edilememiştir (WHO 2019). Bu hastalıkların hem yayılım alanlarının genişlemesinde hem de vaka sayılarının artması büyük oranda *Aedes* türlerinin popülasyon seviyelerini artması ve yayılım alanlarının genişlemesiyle ilişkilendirilmektedir. Özellikle daha önce chikungunya, deng ve zika vakalarının görülmediği Avrupa kıtasında bu hastalıkların *Ae. aegypti*'nin Avrupa kıtasına girmesinden kısa bir süre sonra ortaya çıkması bu durumu açıkça ortaya koymaktadır (Mayer vd., 2017; Caputo vd., 2020).

Bu çalışma ülkemizdeki istilacı *Aedes* türlerinin araştırılması, dağılım alanlarının belirlenmesi, olası orijinlerinin belirlenmesi, ülkemiz için taşıdıkları hastalıklar anlamında risklerin ortaya konulması tüm ülke genelinde gerçekleştirilmiş ilk çalışma olma özelliğindedir. Araştırma rotaları olarak belirlenen alanlar ülkemizin dış dünyaya açıldığı ve büyük ticaret merkezlerini ve ana rotaları içeren alanlar olup istilacı türlerin giriş yapabileceği en kolay alanları içermektedir. Ülkemizin coğrafi yapısı ve bulunduğu konum itibariyle köprü konumunda olması çalışılan alanların ve rotaların önemini daha da artırmaktadır. Araştırma süresi boyunca Doğu Anadolu bölgesinin büyük kısmı ve Güneydoğu Anadolu hariç diğer bölgelerde 578 nokta kayıtlı olarak taranmış ve olası larval alanlar kontrol edilmiştir. Bu kontroller

neticesinde toplamda 357 noktanın *Ae. albopictus* türüyle pozitif, 22 noktanın *Ae. aegypti* ile pozitif olduğu belirlenmiştir.

Genetik araştırmalar, istila edilen bölgelerdeki popülasyon durumu ve türün yayılma modeli hakkında bilgi sağlayabilir. Bu nedenle, genetik çalışmaların sonuçları, halk sağlığı açısından önem taşıyan hastalıkların önlenmesi ve türlerin kontrolü ile ilgili bilgilere katkıda bulunabilir (Ruiling vd., 2018).

Yapılan bu tez çalışması ile ülkemizde yerleşik popülasyonlar oluşturdukları bilinen *Ae. aegypti* ve *Ae. albopictus* türlerinin orijinlerinin moleküler olarak belirlenmeye ve olası invazyon öykülerinin ortaya çıkarılması amaçlanmıştır. Türlerin olası orijinlerinin belirlenmesi; türün biyolojik, ekolojik ve davranışsal özelliklerinin öngörülmesine böylece türlerin gelecekteki yayılım alanlarının belirlenmesine, türlerle yapılması planlan mücadele çalışmalarında ortaya çıkabilecek olumsuzlukların belirlenmesine, türlerin beslenme alışkanlıklarının belirlenmiş olabilecektir. Ayrıca *Ae. aegypti*'nin Karadeniz bölgesindeki varlığı ile alakalı iki farklı senaryo bulunmaktadır (Kotsakiozi vd., 2018). Bu senaryolardan birincisi türün yeni invazyon olduğu üzerine kurgulanırken diğer senaryo olarak türün 1950'li yıllarda bölgede bulunan tür olduğu üzerinde durmaktadır. Her ne kadar Karadeniz bölgesine ait (Samsun hariç) *Ae. aegypti* kaydı bulunmasada Trabzon'da deng humması vakalarının görülmesi bu türün daha önce bu bölgede olabileceğine işaret ediyor olabilir. Tür 2014 yılında türkiyede yeniden defa rapor edildi. Bu durum Türkiye için yeni bir invazyon mu yoksa Gürcistan popülasyonunun genişlemesiyle mi kurulduğu bilinmemektedir. Yapılan arazi çalışmalarından elde edilen bulgularla türlerin güncel dağılım alanları belirlenmiştir.

Haplotip çeşitliliği (Hd) ve nükleotid çeşitliliği (π), popülasyonlar hakkında bilgi sağlayan en önemli iki parametredir. *Ae. albopictus* için yapılan çalışmada elde edilen toplam haplotip ve nükleotid çeşitliliği (0,00 ve 0,17) genel olarak oldukça düşük bulunmuştur. Fang vd. (2018), yerel *Ae. albopictus* popülasyonu olan Çin'de COI gen bölgesinin yüksek nükleotit ve haplotip çeşitliliğini belirlemiştir. Tam tersi olarak Zé-Zé vd. (2020), yeni istila alanları olan Algar ve Portekiz'in Oporto popülasyonlarında düşük haplotip ve nükleotid çeşitliliği belirlemiştir. Bu durum ve bizim gözlemlerimiz türün yeni istila ettiği başka bölgelerde de gözlenen mitokondrial Cytb, COI ve ND5 gen bölgeleri için düşük seviyeli varyasyon durumuyla

örtüşmektedir (Kambhampati vd., 1991; Kambhampati and Rai, 1991; Urbanelli vd., 2000; Kamgang vd., 2011; Žitko vd., 2011; Zé-Zé vd., 2020). Sonuçlarımızdaki düşük nükleotid ve haplotip çeşitliliği darboğaz etkisi ile açıklanabilir. Fang vd. (2018), e göre darboğaz etkisini takiben popülasyonların hızlı genişlemesi, nükleotid çeşitliliğini biriktirmek için gereken süre ile ilgili haplotip kayıplarına neden olabileceğini belirtmiştir.

Ae. albopictus için belirlenen haplotiplerde ana haplotip olarak belirlenen Hap_1 diğer iki haplotipten yalnızca bir nükleotid farklılığı içerdiği bulunmuştur. Bunu yanında Trabzon, Giresun, Ordu, Erzincan, Elazığ ve Sakarya popülasyonlarında haplotip ve nükleotid çeşitliliği sıfır olarak hesaplanmıştır. Bu durumun sebebinin bu bölgelere türün aktif yayılım yoluyla ilk invazyon noktasında yerleşmiş olması olduğu düşünülmektedir. Diğer yandan Elâzığ ve Erzincan illerinin türün dağılım gösterdiği Karadeniz bölgesindeki iller (Artvin, Rize, Trabzon, Giresun, Ordu) ile sınır bağlantısı bulunmamaktadır. Bunun sebebi Karadeniz bölgesinden bu illere taşınan atık lastiklerden kaynaklandığı değerlendirilmiştir. Diğer yandan bu durum tam olarak düşük varyasyonu açıklamamaktadır. Düşük varyasyonun bu bölgelerdeki popülasyonların çok az bireyle kurulmasından kaynaklanıyor olabilir. Sakarya popülasyonu için ise durum muhtemelen Trabzon, Giresun, Ordu popülasyonlarıyla aynıdır. Marmara bölgesinde Sakarya'ya komsu olan Düzce ve Kocaeli'nden türün varlığı daha önce rapor edilmiştir (Ali ve Öztemiz, 2021; Demirci vd., 2021a).

Popülasyonların demografik yapısının belirlenmesi için yapılan nötralite testlerinde (Tajima's D testi ve FS testi) çoğunlukla çalışılan popülasyonlarımızın genişlemesini gösterse de, bu sonuçlar istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($P > 0,05$). Çalışılan 13 popülasyonda toplamda üç haplotip belirlenmiştir. Bu haplotip sayısı yerel türlerle yapılan çalışmalara kıyasla oldukça düşüktür (Akıner vd., 2022). Diğer yandan *Ae. albopictus* 'un diğer istilacı ve yerel popülasyonlarında yapılan çalışmalarda haplotip sayısının yerel bölgelerde yüksek istila alanlarda ise düşük olduğu belirlenmiştir (Birungi ve Munstermann, 2002; Mousson vd., 2005; Maia vd., 2009; Kamgang vd., 2011). Çalışmamızda elde edilen sonuçlar istila alanlardaki verilerle büyük oranda örtüşmektedir. Fang vd. (2018) yerel Çin *Ae. albopictus* popülasyonlarında COI gen bölgesi için 42 haplotipin varlığını belirlemiştir. Diğer yandan Zé-Zé vd. (2020) istila alan olan Portekiz popülasyonlarında COI gen bölgesi

için 5 haplotip belirlemiştir. Žitko vd. (2011). Benzer şekilde diğer istila alan olan doğu Adriyatik kıyılarında COI gen bölgesi için dört haplotip belirlemiştir. Düşük genetik çeşitliliğin nedeni, yoğun insektisit kullanımı ve sıcaklık, nem ve yükseklik gibi farklı seçim baskılarından kaynaklanıyor olabilir. Yerli türlerde haplotip kayıplarını bu parametrelerle açıklamak mümkün olsa da darboğaz etkisi ile yeni istila alanlarındaki haplotip kayıplarını açıklamak daha doğru bir yaklaşımdır. Fang vd. (2018) bu durumu belirtmiş ve bazı Çin'de çalıştıkları *Ae. albopictus* popülasyonlarının düşük Hd ve π derecelerini seçim baskısı ve darboğaz etkisi ile açıklamışlardır.

Yapılan çalışmada belirlenen üç haplotip içerisinde en baskın haplotip Hap_1 olarak belirlenmiştir. Bu haplotip her üç coğrafi bölgede de bulunmuştur. Bu durum bu haplotipin frekansının dünya genelinde yaygın bir haplotip olmasıyla açıklanabilir. Zira yapılan GenBank taramalarında bu haplotip dünya genelinde bulunmuştur.

Doğu Karadeniz bölgesindeki *Ae. albopictus* popülasyonları büyük ihtimalle Gürcistan üzerinden Türkiye'ye giriş yapmıştır. Türün daha önce Rusya ve Gürcistan sınırında belirlenmiş olması diğer yandan *Ae. albopictus* Türkiye'de ilk olarak 2015 yılında belirlenmiş ve popülasyon seviyeleri oldukça düşük bulunmuştur ancak aynı yıl Gürcistan yapılan sürveys çalışmaları türün Türkiye sınır ili olan Batum da en yoğun tür olduğu rapor edilmesi da bu durumu destekler niteliktedir (Kutateladze vd., 2016). Sherpa vd. (2019), Türkiye'nin Doğu Karadeniz soylarının Kuzey İtalya'dan gelen tropikal kökenli soy olduğunu rapor etmiştir. Elde ettiğimiz verilerde bu durumu desteklemektedir.

Yapılan çalışmada Hap_2 Türkiye'de Marmara ve doğu Karadeniz popülasyonlarında belirlenmiştir. Diğer yandan GenBank taramalarında bu haplotipin aynı zamanda Rusya örneklerinde var olduğu görülmüştür. Ancak Gürcistan örneklerinde bu haplotip tespit edilememiştir (Ganushkina vd., 2016; Fedorova vd., 2018). Bu durumun sebebi Gürcistan'a ait yeteri kadar COI gen bölgesini olmamasından kaynaklanıyor olabilir. Çünkü GenBank'ta bu gen bölgesine ait 11 tane sekans verisi bulunmakta olup ve bu sekans verilerinin tamamı Hap_1 ile örtüşmüştür.

Benzer şekilde Marmara bölgesi coğrafi popülasyonlarının Hap_1 ve Hap_2 haplotiplerinden oluştuğu gözlenmiştir. Ancak Karadeniz bölgesi coğrafi popülasyonunda olduğu gibi Hap_1 baskın haplotip olarak belirlense de Hap_2'nin

orani Karadeniz bölgesi coğrafi popülasyonundan daha düşük belirlenmiştir. AMOVA test sonuçları, Karadeniz, Marmara ve Ege bölgeleri arasında anlamlı bir fark ($p < 0,05$) ortaya koymuştur. Bu durumun temelini araştırmak için yapılan Fst testinde Marmara ve Karadeniz coğrafi popülasyonları arasında anlamlı farklar belirlenmiştir.

Karadeniz *Ae. albopictus* coğrafi popülasyonu muhtemelen Gürcistan'dan ve muhtemelen Kuzey İtalya soyundan gelmektedir. Sherpa vd. (2019), Türkiye'nin Doğu Karadeniz soylarının Kuzey İtalya'dan geldiğini de belirtti. Ayrıca *Ae. albopictus*'un Rusya ve Gürcistan sınırları boyunca varlığı bu durumu desteklemektedir.

Marmara bölgesindeki *Ae. albopictus* coğrafi popülasyonlarının Yunanistan veya Bulgaristan üzerinden gelmiş olması muhtemeldir. Öter vd. (2013), Türkiye'nin Trakya bölgesindeki *Ae. albopictus* istilasına ilişkin ilk raporunda bu durumdan bahsetmiştir. Ayrıca 2016 yılında yapılan arazi çalışmalarında Türkiye ve Bulgaristan sınır bölgesindeki küçük köylerde (Begendik ve Limanköy) *Ae. albopictus* popülasyonları belirlenmiştir (Akıner vd., 2016). Ancak Trakya bölgesine ait popülasyonların Yunanistan ya da Bulgaristan popülasyonlarından köken aldığı tam olarak açıklanmamıştır ve bu durumun sebebi Yunanistan ve Bulgaristan'dan GenBank örneklerinin eksikliği ya da yetersizliği ile ilgili olabilir. Ancak Marmara bölgesinde bulunan İstanbul ve Kocaeli *Ae. albopictus* popülasyonlarının invazyonu muhtemelen Trakya bölgesi popülasyonlarından farklı gerçekleşmiş olabilir. Bu iki şehir Marmara bölgesinin en büyük şehirleri arasındadır bu şehirlerin sahip oldukları limanlar yeni invazyonlar için en olası kaynaklardır. *Ae. albopictus*'un bu şehirlere girişi Avrupa'daki diğer limanlardan ve diğer kıtalardan gelen gemiler tarafından taşınan yüklerle giriş yapmış olması daha muhtemel bir durumdur.

Ege bölgesinin coğrafi popülasyonlarının genetik yapısı diğer bölgelerden farklı bulunmuştur. AMOVA testinde Karadeniz Marmara ve Ege coğrafi popülasyonlarında anlamlı farklılık olduğu belirlenmiştir. Diğer yandan illere göre popülasyonların karşılaştırıldığı FST analizinde Ege coğrafi (Muğla ve İzmir) popülasyonu genel olarak Kırklareli İstanbul ve Kocaeli popülasyonlarında anlamlı olarak farklı bulunmuşken Karadeniz coğrafi popülasyonu ile anlamlı fark bulunmamıştır. Bu durumun sebebi Hap_1 in frekansı ile ilişkili olabilir. Zira diğer bölgelerde olduğu gibi Hap_1 baskın haplotip olarak belirlenmiştir. Diğer yandan Hap_2 bu bölgedeki coğrafi popülasyonlarda belirlenememiştir. Diğer yandan Hap_3

yalnızca Ege bölgesindeki İzmir ve Muğla popülasyonlarında belirlenmiş ve frekansı oldukça düşük olarak gözlenmiştir. Hap_3 ün yalnızca Ege soylarının bulunması aslında Marmara ve Karadeniz soylarından farklı olduğunu açıkça açıklamaktadır. Ayrıca Ege bölgesinde *Ae. albopictus*'un varlığı diğer bölgelere göre daha sonra belirlenmiştir (önce Aliğa limanı çevresinde, sonra Muğla'da). Bu iki durum, muhtemelen diğer kıtalardan veya anakara Avrupa'dan gelen gemiler aracılığıyla birden fazla istila olduğunu ve ülkeler arasında feribotlarla insan hareketi olduğunu göstermektedir. *Ae. albopictus*, alana varlığı bilinen Ege adalarından gelmiş olabilir (Badieritakis vd., 2018). Demirci vd., (2021b), geometrik morfometrik verilere göre Ege ve Karadeniz soyları arasındaki farklılıkları belirtmiştir. Bu bulgu fenotipik çeşitlilikle ilgilidir ve biyolojik, ekolojik ve genetik dahil olmak üzere çeşitli faktörlerle ilişkili olabilir. Sonuçlarımız moleküler verilerle Ege ve diğer bölgeler arasındaki farkı ortaya koymuş ve geometrik morfometrik verileri desteklemiştir. GenBank verilerine göre Avrupa ve Kafkas örneklerinde Hap_3 ilk giriş bölgelerinde bulunamamıştır. Ayrıca bazı Avrupa ülkelerinde (Hırvatistan, Yunanistan ve Portekiz) nadiren gözlenmektedir. Çin, Hindistan ve ABD örnekleri de bizim çalışmamıza benzer bir örüntü çizmektedir. Genbank verilerine göre bu alanlarda bu soylar için Hap_1 ana ve Hap_3 ikinci haplotiptir. Bu durum, Ege bölgesinde bulunan soyların Marmara ve Karadeniz soylarından bağımsız olarak girdiğini ve muhtemelen tropik ve ılıman soyların karışımı ancak ılıman soya daha yakın olduklarını ortaya koymaktadır.

Sonuçlarımız, Türkiye'deki *Ae. albopictus*'un bölgelerdeki haplotip çeşitliliğine göre farklı orijinlerden çoklu istilalara sahip olabileceğini ortaya koymuştur. İkili FST sonuçları, tüm bölgesel soyların Asya, Avrupa, Amerika ve Afrika soyları arasında farklı derecelerde farklılıklar gösterdiğine işaret etmiştir. Diğer kıta soyları ile farklılıklar gösterse de bölgesel soy sonuçlarımız Fas, Alman, Yunan ve Gürcü Genbank örnekleriyle farklılık göstermemiştir. İstila Avrupa'da ortaya çıkmış olsa da bölgesel soylarımız ılıman Asya soylarıyla (Ege soyları hariç) daha yakından ilişkili görünmektedir. Ege soyları muhtemelen soyları hem Arnavutluk hem de İtalya soylarıyla karıştırmıştır. İç kesimlerdeki Elazığ ve Erzincan popülasyonlarının muhtemelen Karadeniz bölgesinden kullanılmış lastik ticareti ile bağlantıları vardır.

Sonuç olarak, İstilacı vektör türlerinin herhangi bir ülkeye girmesi ve

yayılması, arboviral bulaşma için kilit bir faktördür. *Ae. albopictus*'un Türkiye'ye girişi birden fazla yoldan olmuş olabilir ve türün vektör yetkinliği coğrafi orijine göre değişmektedir. Lourenco-De-Oliveira vd. (2003), türün coğrafi köken ile bağlantı vektör yetkinliğini göstermiştir. Türkiye, Asya ile Avrupa veya Orta Doğu ile Avrupa'nın Doğu kısmı arasında bir köprü konumundadır ve arboviral hastalıkların endemik olduğu bölgelerden gelen birçok mülteci kıta Avrupa'sına ulaşmak için bu yolu kullanmaktadır. *Ae. albopictus*'un Türkiye'deki varlığı ve yayılması, yalnızca ortaya çıkan arbovirüslerin girişi için değil, aynı zamanda yerel Batı Nil virüsü dolaşımı için de önemli bir halk sağlığı tehdididir. Bu açılardan, ulusal entomolojik sürveyans programlarının başlatılması ve etkili vektör kontrol önlemlerinin uygulanması, gelecekteki yerli arboviral hastalık riskini azaltmada kritik faktörlerdir.

Türkiye'deki *Ae. aegypti* popülasyonlarının olası kökenini belirlemek için kullanılan dört mitokondrial ve bir genomik DNA gen bölgesi kullanılarak her bir gen bölgesi için ayrı ayrı elde edilen haplotipler ve bu haplotiplerin GenBank örnekleri kullanılarak çizilen filogenetik ağaçlarda Karadeniz bölgesi örnekleri genel olarak Kafkas (Rusya, Gürcistan) örnekleriyle yakından ilişkili bulunmuştur. Öte yandan, bazı haplotipler Okyanusya, Asya, Avrupa ve Amerika örnekleriyle ilişkili ancak belirli bir kümelenme göstermemiştir. Ayrıca COI (C1) gen bölgesi için Hap_2 ve Hap_4 ve ITS2 (I2) gen bölgesi için Hap_1 ve Hap_2 haplotipleri sadece Kafkas bölgesi tarafından temsil edilmektedir. Ayrıca ITS2 (I2) gen bölgesinden elde edilen sekans verilerinde iki nükleotidlik delesyon gözlenmiş ve bu delesyon sadece Türkiye ve Kafkasya bölgesine özgü olarak saptanmıştır. Shaikovich vd. (2018), Rusya'da Karadeniz kıyılarında ITS2 gen bölgesinde aynı delesyonun varlığını belirlemiştir. COI (C1) gen bölgesinin bir haplotipinin (Hap_1) ve ITS2 gen bölgesinin iki haplotipinin (Hap_1 ve Hap_6) sekans verileri, 1950'lerde Amerika ve Karayipler'de kolonileştirilen laboratuvar soyları (sırasıyla Porto Rika, Rockefeller soyu) ile % 100 uyum gösterdi (Kuno, 2014). Aynı şekilde Shaikovich vd. (2018), Kafkasya bölgesinde yaptıkları çalışmada, ITS2 gen bölgelerinin sekanslarının Rockefeller soyu ile % 100 uyumlu örnekler bulmuşlardır. ND4 gen bölgesi için dış grup olarak kullanılan *Ae. albopictus* (KRD soyu) soyu ile *Ae. aegypti* örnekleri örtüşmüştür. Bu durum ND4 gen bölgesinin *Ae. albopictus* için ayırt edici bir özelliğe sahip olamayacağını ortaya koymaktadır. Bazı haplotipler yalnızca Karadeniz Kafkasya

bölgesine özgü bulunmuştur. Bu durum ancak türün gen bölgelerine ait sekans verilerinin yetersiz olması veya türün bu bölgede yeni bir soyunun olabileceği ile açıklanabilir. Özellikle kullanılan gen bölgelerinin dünya çapında sıklıkla kullanılan gen bölgeleri olması ikinci ihtimali güçlendirmektedir.

Kotsakiozi vd., (2018), tarafından yapılan çalışmada bölgedeki popülasyonların olası kökeni için beş farklı senaryo çizilmiştir. Bu senaryolar genel olarak türün bölgede 1950'lerde daha önce rapor edilen türün yeni bir istilasını mı yoksa devamını mı olduğuna dayanmaktadır ve bölge popülasyonlarının Asya örneklerine daha yakın olmasına rağmen hem Asya hem de yenedünya popülasyonlarından farklı olduğunu göstermiştir. Elde ettikleri sonuçlarda bölgedeki *Ae. aegypti* popülasyonlarının 1950'lerden kalma olabileceğini belirtmişlerdir.

Karadeniz bölgesindeki *Ae. aegypti* örneklerinin haplotip sayıları, nükleotid ve haplotip çeşitliliği oldukça düşük bulunmuştur. Benzer şekilde Shaikovich vd. (2018), Kafkasya bölgesindeki yapmış oldukları çalışmada COI ve ITS gen bölgelerinin düşük varyasyona sahip olduğunu belirtmiştir. Genel olarak, düşük haplotip ve nükleotid çeşitliliği, istilacı popülasyonların özelliği olarak kabul edilmektedir. Benzer şekilde tekrarlanan darboğaz etkisi, uygun olmayan çevre koşulları gibi genetik çeşitliliği olumsuz etkilemektedir ve düşük haplotip ve nükleotid çeşitliliğine neden olabilmektedir (Mousson vd., 2005). Paduan ve Ribolla, (2008) Brezilya'da ND4 gen bölgesi için 24 haplotip bulmuştur. COI gen bölgesi için 7 haplotip belirlemiştir. Benzer şekilde, Damal vd. (2013) Florida'da ND4 gen bölgesi için 42 haplotip ($Hd = 0,81$), ND5 gen bölgesi için 12 haplotip ($Hd = 0,71$) belirlemiştir. Bu çalışmalarda elde edilen haplotip sayıları çalışmamızda elde edilen haplotip sayılarına göre oldukça yüksektir. Bu durumun sebebi bu bölgelerde türün uzun zamandan beri varlığı ile açıklanabilir. Diğer taraftan Johan vd. (2018), Endonezya'daki dört şehirde COI için yedi haplotip belirlemiştir. Khater vd. (2021), Arap Yarımadası ITS, COI ve ND4 primerlerini kullanarak COI için 8, ND4 için 14 ve ITS2 için 4 haplotipin varlığını belirlemiştir. Bu çalışmalarda elde edilen haplotip sayıları çalışmamızda elde edilen haplotip sayıları ile örtüşmektedir. Bu alanlardaki ve bizim çalışmamızdaki haplotip sayısının düşük bulunmasının sebebi türün alanlara yeni yerleşme ile açıklamak mümkün değildir. Çünkü *Ae. aegypti* Arap Yarım Adası'nda uzun zamandan beri

bilinmektedir. Endonezyada ise 1900 lillardan beri bilinmektedir (Maynard vd., 2023). Bu durumun sebebi türle yapılan mücadele olabilir.

Ae. aegypti için elde edilen diziler birleştirilerek popülasyonlar arasındaki ilişkide Rize popülasyonu ile diğer popülasyonlar arasında önemli farklılıklar belirlenmiştir. Bu farkın coğrafi mesafe ile gözle görülür şekilde arttığı belirlenmiştir. Aynı şekilde, Rize popülasyonu iki haplotiple (Hap_1 ve Hap_4) temsil edilmiş ve Hap_2 daha düşük bir frekansa sahip olarak gözlenmiştir. Bu, türün bölgeye daha sonra yayıldığını gösterebilir. Artvin-Tiflis çifti ile Artvin-Kobi çifti arasında önemli farklılıklar saptanmıştır. Artvin-Tiflis çiftleri arasındaki farklılığın sebebi, farklı iklim yapılarına sahip olmaları olarak açıklansa da bu, Artvin-Kobi çiftleri arasındaki farkı açıklamaz. Haplotiplerin dağılımları ve farklılıkları dikkate alındığında doğu-batı yönünde genetik çeşitliliğin azaldığı görülmektedir. Hızlı genişlemenin *Ae. aegypti* için genetik çeşitlilik kaybına neden olduğu bilinmektedir (Mousson vd., 2005). Bu, türün batıya doğru hızla yayıldığı anlamına gelebilir. Bu durum tür raporlama yıllarına göre incelendiğinde de görülmektedir (Ganushkina vd., 2012; Akıner vd., 2016).

Sonuç olarak elde ettiğimiz sonuçlar, türün bu bölgede eski bir tür olma olasılığının yüksek olduğunu ve hem Türkiye hem de Gürcistan için yeni bir istila olmadığını ortaya koymuştur.

2018 ve 2019 yıllarında doğu Karadeniz bölgesinden elde edilen *Ae. albopictus* ve *Ae. aegypti* örneklerinde, Marmara ve Ege bölgelerinden elde edilen *Ae. albopictus* örneklerinde arbovirüs varlığı araştırılmıştır. Arbovirüs taramalarında en önemli virüs aileleri olan filavivürüs, alfavirüs veya flebovirüs varlıkları araştırılmıştır. Elde edilen sonuçlarda her iki yıl için alfavirüs veya flebovirüs varlığı tespit edilmemiştir. Diğer yandan 2018 yılında toplanan 906 örnekten elde edilen 46 havuzda Karadeniz bölgesinde Rize ili Çayeli ilçesinde bir havuzda Batı Nil virüsü belirlenmiştir. Ayrıca Artvin ili Hopa ilçesinde dört havuzdan ikisinde *Ae. filavivirüs* varlığı tespit edilmiştir.

2019 yılında Rize Çayeli bölgesinde Batı Nil virüsü pozitifliği devam etmiş ancak çalışılan örnek ve havuz sayısı daha fazla olmasına rağmen pozitif havuz frekansı bir önceki yıla göre daha düşük bulunmuştur. 2018 yılına ek olarak 2019 yılında Karadeniz bölgesinde Rize (R7), Artvin Arhavi (A1) havuzlarında Marmara bölgesinde ise İstanbul adalar (I1) ve Kırklareli Beğendik'te (K1) Batı Nil virüsü varlığı belirlenmiştir. Bu durumun sebebi 2018 yılında hem havuz bazında hemde

numune bazında daha öz örnek çalışılmasından kaynaklı olabilir. Diğer taraftan bu durumun sebebi örnek toplama mevsimlerinin farklılığından kaynaklanıyor olabilir. Çünkü virüs yükü ilkbahar aylarında daha az iken sonbahar aylarına doğru bu virüs yükü giderek artabilmektedir. Akıner vd. (2019), Karadeniz bölgesinde *Ae. albopictus* ve *Ae. aegypti* ve *Cx. pipiens* örneklerinde arbovirüs taramaları gerçekleştirmişlerdir. Yapmış oldukları çalışmada bu tez çalışmasına benzer olarak *Ae. aegypti* örneklerinde pozitif örnek belirlenmemiştir. Aynı şekilde Artvin bölgesinde üç *Ae. albopictus* havuzunda da Rize bölgesinde ise bir *Ae. albopictus* havuzunda Batı Nil virüsü varlığını tespit etmişlerdir. Sonuçlarda 2019 yılında Marmara ve Trakya bölgelerinde ki havuzlarda da Batı Nil virüsü varlığı belirlenmiştir. Ancak bu durum hiç şaşırtıcı değildir çünkü bu bölgelerde daha önce Batı Nil Virüsü varlığı çeşitli çalışmalarda gösterilmiştir (Kalaycıoğlu vd., 2012; Ergunay vd., 2014; Uyar ve Bakır, 2016; Cizmeciğil vd., 2021; Erdogan Bamaç vd., 2021). Ergunay vd. (2014), Edirne'de *Ae. caspius* örneklerinde ve Ege Bölgesi'nde Muğla ilinde *Cx. pipiens* örneklerinde Batı Nil virüsü tespit etmiştir. Çalışmamızda Edirne'nin sınırı olan Kırklareli'nde pozitif örnekler bulunurken, Ege bölgesine ait İzmir'de pozitif örneğe rastlanmamıştır. Trakya ve Ege bölgelerinin kuş göç yolları içermesi nedeniyle bu bölgelerde Batı Nil virüsü varlığının tespit edilmesi şaşırtıcı değildir. Ancak çalışmamızda Ege bölgesindeki Aliağa *Ae. albopictus* havuzlarında Batı Nil virüsü tespit edilememiştir. Bu durumun iki sebepten kaynaklanıyor olabileceği düşünülmektedir. Birincisi bölgeden elde edilen havuzlardaki örnek sayılarının yetersiz olması ikincisi ise örneklerin toplanma zamanının Batı Nil virüsü insidansının düşük olmasından kaynaklanıyor olabilir. 2019 yılında Marmara bölgesinde İstanbul ve Kocaeli'de pozitif vakalar elde edilmiştir. İstanbul ve Kocaeli Türkiye'nin nüfus yoğunluğu açısından en büyük şehirleridir. Bu şehirler konumları itibarıyla kuş göç yolları üzerinde bulunması, iklimsel koşulları ve insan ve hayvan hareketliliğinin fazla olması sebeplerinden ötürü pek çok hastalık risklerini barındırmaktadır. Kalaycıoğlu vd. (2012) ayrıca hastalardan alınan örnekleri serolojik olarak incelemiş ve en yüksek hastalık oranının (12 vaka) Sakarya'da (İnsidansı 1,39) olduğunu ve Kocaeli'de 1 pozitif vaka (İnsidansı 0,7) tespit etmiştir. Ancak bu çalışmada Sakarya ilinde pozitif örnek tespit edildi. Bunun nedeni küçük havuzlar olabilir. Benzer şekilde çalışmamızla aynı yılda Erdoğan Bamac vd. (2021), 2021 yılında İstanbul'da 34 kargadan 8'inde pozitif vaka tespit etmiştir. Karadeniz

bölgesi, Kafkasya'dan geçen kuş göç yoluna yakınlığı nedeniyle sıcaklık, nem ve yağış açısından sivrisinek kaynaklı hastalık vektörleri için ve ayrıca virüs dolaşımı için idealdir (Uyar ve Bakır, 2016).

Aynı zamanda havuzlarda Ae. flavivirus örnekleri doğrulanmış olup, 2018 yılında sadece bir bölgede (Artvin Hopa) iki havuzda Ae. flavivirus tespit edilmiş olup, 2019 yılında da aynı bölgede virüs varlığı devam etmiş ve Pozitif havuzların oranı bir önceki yıla göre daha yüksek olarak gözlenmiştir. Akıner vd. (2019), aynı bölgede Ae. flavivirus varlığını da belirlemiştir. Bu da bölgede bu virüsün dolaşımının desteklendiğini ve devam ettiğini göstermektedir. 2019 yılında üç farklı bölgede (Artvin-Hopa, Rize-Fındıklı, İstanbul adaları) Ae. flavivirus tespit edilmiştir. Artvin ve Rize bölgelerinde bu virüs tipinin belirlenmesi şaşırtıcı değildir çünkü bu havuzlama noktaları arasındaki mesafe yaklaşık 30 km civarındadır. Son olarak 2019 yılında yapılan taramalarda Artvin Hopa'da hücre kaynaştırıcı ajan tespit edilmiştir.

KAYNAKÇA

- Adhami, J., ve Murati, N. (1987). The presence of the mosquito *Aedes albopictus* in Albania. *Revista Mjekesore, 1*, 13-16.
- Akiner, M. M., Demirci, B., Bedir, H., Öztürk, M., Demirtaş, R., Doğan, A. F. ve Irmak, H. (2018). Surveillance and Control of Invasive Aedes Species in The Eastern Black Sea Area of Turkey. *Turkish Bulletin of Hygiene and Experimental Biology/Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji, 75*(3).
- Akiner, M. M., Öztürk, M., Başer, A. B., Günay, F., Hacıoğlu, S., Brinkmann, A., ve Ergunay, K. (2019). Arboviral screening of invasive Aedes species in northeastern Turkey: West Nile virus circulation and detection of insect-only viruses. *PLoS Neglected Tropical Diseases, 13*(5), e0007334.
- Akiner, M. M., Öztürk, M., Beriş, F. Ş., Karacaoğlu, Ç., Şimşek, F. M. and Akgeyik, A. U. (2022). Distribution and molecular differentiation of *Culex pipiens complex* species in the Middle and Eastern Black Sea Regions of Turkey. *Turkish Journal of Zoology, 46*(2), 207-219.
- Akiner, M. M., Demirci, B., Babuadze, G., Robert, V. ve Schaffner, F. (2016). Spread of the invasive mosquitoes *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus* in the Black Sea region increases risk of chikungunya, dengue, and Zika outbreaks in Europe. *PLoS Neglected Tropical Diseases 10*(4), e0004664.
- Ali, E. ve Öztemiz, S. (2021). İstanbul'da Sivrisinek Türleri ile İnvaziv Aedes Türlerinin Tespiti ve Bulunma Oranları. *Düzce Üniversitesi Bilim ve Teknoloji Dergisi, 9*(3), 321-327.
- Almeida, A. P., Gonçaves, Y. M., Novo, M. T., Sousa, C. A., Melim, M., ve Gracio, A. J. (2007). Vector monitoring of *Aedes aegypti* in the Autonomous Region of Madeira, Portugal. *Weekly Releases (1997–2007), 12*(46), 3311.
- Alten, B., ve Çağlar, S.S. (1998). *Vektör Ekolojisi ve Mücadelesi*. T.C. Sağlık bakanlığı, Sağlık Projesi Genel Koordinatörlüğü., Bizim Büro Basımevi, Ankara. 242 s.
- Aranda, C., Eritja, R., ve Roiz, D. (2006). First record and establishment of the mosquito *Aedes albopictus* in Spain. *Medical and Veterinary Entomology, 20*(1), 150-152.
- Avise, J. C. (1994). *Molecular markers, natural history and evolution*. Springer, New York, 511 pp.
- Badieritakis, E., Papachristos, D., Latinopoulos, D., Stefopoulou, A., Kolimenakis, A., Bithas, K., ve Michaelakis, A. (2018). *Aedes albopictus* (Skuse, 1895)(Diptera: Culicidae) in Greece: 13 years of living with the Asian tiger mosquito. *Parasitology Research, 117*(2), 453-460.

- Barrera, R., Amador, M., Diaz, A., Smith, J., Munoz-Jordan, J. L., ve Rosario, Y. (2008). Unusual productivity of *Aedes aegypti* in septic tanks and its implications for dengue control. *Medical and Veterinary Entomology*, 22(1), 62-69.
- Becker, N., Petrić, D., Zgomba, M., Boase, C., Madon, M. B., Dahl, C., Kaiser, A. (2019). *Mosquitoes: identification, ecology and control*. Springer International Publishing, New York.
- Beebe, N. W., Ambrose, L., Hill La Davis, J. B., Hapgood, G. ve Cooper R. D. (2013). Tracing the tiger: population genetics provides valuable insights into the *Aedes (Stegomyia) albopictus* invasion of the Australasian region. *PLoS Neglected Tropical Diseases* 7, e2361.
- Bellini, R., Albieri, A., Balestrino, F., Carrieri, M., Porretta, D., Urbanelli, S., ve Maini, S. (2014). Dispersal and survival of *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae) males in Italian urban areas and significance for sterile insect technique application. *Journal of Medical Entomology*, 47(6), 1082-1091.
- Benedict, M. Q., Levine, R. S., Hawley, W. A. ve Lounibos, L. P. (2007): Spread of the tiger: global risk of invasion by the mosquito *Aedes albopictus*. *Vector-Borne and Zoonotic Diseases* 7, 76–85.
- Bhatt, S., Gething, P. W., Brady, O. J., Messina, J. P., Farlow, A. W., Moyes, C. L., ve Hay, S. I. (2013). The global distribution and burden of dengue. *Nature*, 496(7446), 504-507.
- Birungi, J., ve Munstermann, L. E. (2002). Genetic structure of *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae) populations based on mitochondrial ND5 sequences: evidence for an independent invasion into Brazil and United States. *Annals of the Entomological Society of America*, 95(1), 125-132.
- Bosio, C. F., Harrington, L. C., Jones, J. W., Sithiprasasna, R., Norris, D. E., ve Scott, T. W. (2005). Genetic structure of *Aedes aegypti* populations in Thailand using mitochondrial DNA. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 72(4), 434-442.
- Bracco, J. E., Capurro, M. L., Lourenço-de-Oliveira, R., ve Sallum, M. A. M. (2007). Genetic variability of *Aedes aegypti* in the Americas using a mitochondrial gene: evidence of multiple introductions. *Memorias do Instituto Oswaldo Cruz*, 102, 573-580.
- Brady, O. J., Golding, N., Pigott, D. M., Kraemer, M. U., Messina, J. P., Reiner Jr, R. C., ve Hay, S. I. (2014). Global temperature constraints on *Aedes aegypti* and *Ae. albopictus* persistence and competence for dengue virus transmission. *Parasites ve vectors*, 7(1), 1-17.

- Brasil, P., Sequeira, P. C., Freitas, A. D. A., Zogbi, H. E., Calvet, G. A., De Souza, R. V., ve Solomon, T. (2016). Guillain-Barré syndrome associated with Zika virus infection. *The Lancet*, 387(10026), 1482.
- Briegel, H., ve Timmermann, S. E. (2001). *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae): physiological aspects of development and reproduction. *Journal of Medical Entomology*, 38(4), 566-571.
- Caputo, B., Russo, G., Manica, M., Vairo, F., Poletti, P., Guzzetta, G., ve Solimini, A. (2020). A comparative analysis of the 2007 and 2017 Italian chikungunya outbreaks and implication for public health response. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, 14(6), e0008159..
- Cizmecigil, U. Y., Mete, A., Yilmaz, A., Aydin, O., Tali, H. E., Tali, B. H., ve Yilmaz, H. (2021). Emergence of West Nile Virus Lineage-2 in Resident Corvids in Istanbul, Turkey. *Vector Borne and Zoonotic Diseases*, 21(11), 892-899.
- Colebunders, R. (2001). Imported case of confirmed yellow fever detected in Belgium. *Weekly Releases (1997–2007)*, 5(47), 2058..
- Dalla Pozza, G., ve Majori, G. (1992). First record of *Aedes albopictus* establishment in Italy. *Journal of the American Mosquito Control Association*, 8(3), 318-320.
- Damal, K., Murrell, E. G., Juliano, S. A., Conn, J. E., ve Loew, S. S. (2013). Phylogeography of *Aedes aegypti* (yellow fever mosquito) in South Florida: mtDNA evidence for human-aided dispersal. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 89(3), 482.
- de Lamballerie, X., Leroy, E., Charrel, R. N., Ttsetsarkin, K., Higgs, S., ve Gould, E. A. (2008). Chikungunya virus adapts to tiger mosquito via evolutionary convergence: a sign of things to come?. *Virology Journal*, 5(1), 1-4.
- Delatte, H., Bagny, L., Brengue, C., Bouetard, A., Paupy, C. ve Fontenille, D. (2011). The invaders: phylogeography of dengue and chikungunya viruses *Aedes* vectors, on the South West islands of the Indian Ocean. *Infection, Genetics and Evolution*, 11, 1769–1781.
- Delatte, H., Gimonneau, G., Triboire, A., ve Fontenille, D. (2009). Influence of temperature on immature development, survival, longevity, fecundity, and gonotrophic cycles of *Aedes albopictus*, vector of chikungunya and dengue in the Indian Ocean. *Journal of Medical Entomology*, 46(1), 33-41.
- Demirci, B., Bedir, H. ve Akiner, M. M. (2021b). Landmark-based geometric morphometric analysis of wing size and wing shape among *Aedes albopictus* (Skuse, 1894) populations in Turkey. *Journal of Vector Ecology*, 46(1), 103-111.
- Demirci, B., Bedir, H., Öztürk, M. ve Akiner, M. M. (2021a). Status of the invasive mosquito species *Aedes aegypti* (L., 1762) and *Aedes albopictus* (Skuse,

- 1895)(Diptera: Culicidae) in Turkey. *Turkish Journal of Entomology*, 45(2), 279-292.
- Depoortere, E., ve Coulombier, D. (2006). Chikungunya risk assessment for Europe: recommendations for action. *Weekly Releases (1997–2007)*, 11(19), 2956.
- Dieng, H., Saifur, R. G., Hassan, A. A., Salmah, M. R. C., Satho, T., Miake, F., ve Hamdan, A. (2012). Changing domesticity of *Aedes aegypti* in northern peninsular Malaysia: reproductive consequences and potential epidemiological implications. *PLoS One*, 7(2), e30919.
- Dlugosch, K. M., Anderson, S. R., Braasch, J., Cang, F. A., ve Gillette, H. D. (2016). The devil is in the details: genetic variation in introduced populations and its contributions to invasion. *Invasion Genetics: The Baker and Stebbins Legacy*, 1, 232-251.
- ECDC. (2012). *Guidelines for the surveillance of invasive mosquitoes in Europe*. 18.12.2022 tarihinde <http://ecdc.europa.eu/en/publications/Publications/TER-Mosquito-surveillance-guidelines.pdf> adresinden alındı.
- ECDC. (2013). Epidemiological update: Outbreak of dengue in Madeira, Portugal. 14.02.2023 tarihinde <https://www.ecdc.europa.eu/en/news-events/epidemiological-update-outbreak-dengue-madeira-portugal-13-february2013> adresinden alındı.
- ECDC. (2023). *Aedes aegypti* - current known distribution. 07.05.2023 tarihinde <https://www.ecdc.europa.eu/en/publications-data/aedes-aegypti-current-known-distribution-february-2023> adresinden alındı.
- Effler, P. V., Pang, L., Kitsutani, P., Vorndam, V., Nakata, M., Ayers, T., ve Hawaii Dengue Outbreak Investigation Team. (2005). Dengue fever, hawaii, 2001–2002. *Emerging Infectious Diseases*, 11(5), 742.
- Eldridge, B. F. (2005). Mosquitoes, the culicidae. *Biology of Disease Vectors*, 2, 95-111.
- Elnour, M. A. B., Moustafa, M. A. M., Khogali, R., Azrag, R. S., Alanazi, A. D., Kheir, A., ve Salim, B. (2020). Distinct haplotypes and free movement of *Aedes aegypti* in Port Sudan, Sudan. *Journal of Applied Entomology*, 144(9), 817-823.
- Erdogan Bamac, O., Cizmecigil, U. Y., Mete, A., Yilmaz, A., Aydin, O., Tali, H. E., ve Yilmaz, H. (2021). Emergence of West Nile Virus Lineage-2 in Resident Corvids in Istanbul, Turkey. *Vector-Borne and Zoonotic Diseases*, 21(11), 892-899.
- Ergunay, K., Aydogan, S., Menemenlioglu, D., Sener, B., Lederer, S., Steinhagen, K., ve Us, D. (2010b). Investigation of West Nile virus in central nervous system

infections of unknown etiology in Ankara, Turkey. *Mikrobiyoloji Bülteni*, 44(2), 255-262

- Ergunay, K., Günay, F., Erisoz Kasap, O., Oter, K., Gargari, S., Karaoglu, T., ve Ozkul, A. (2014). Serological, molecular and entomological surveillance demonstrates widespread circulation of West Nile virus in Turkey. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, 8(7), e3028
- Ergunay, K., Ozer, N., Us, D., Ozkul, A., Simsek, F., Kaynas, S., ve Ustacelebi, S. (2007). Seroprevalence of West Nile virus and tick-borne encephalitis virus in southeastern Turkey: first evidence for tick-borne encephalitis virus infections. *Vector-Borne and Zoonotic Diseases*, 7(2), 157-161.
- Ergunay, K., Saygan, M. B., Aydoğan, S., Litzba, N., Niedrig, M., Pınar, A., ve Us, D. (2010d). Investigation of Dengue virus and yellow fever virus seropositivities in blood donors from Central/Northern Anatolia, Turkey. *Mikrobiyoloji Bülteni*, 44(3), 415-424.
- Ergunay, K., Saygan, M. B., Aydoğan, S., Menemenlioğlu, D., Turan, H. M., Özkul, A., ve Us, D. (2010a). West Nile virus seroprevalence in blood donors from Central Anatolia, Turkey. *Vector-Borne and Zoonotic Diseases*, 10(8), 771-775.
- Ergunay, K., Saygan, M. B., Aydoğan, S., Menemenlioğlu, D., Turan, H. M., Özkul, A., ve Us, D. (2010c). West Nile virus seroprevalence in blood donors from Central Anatolia, Turkey. *Vector-Borne and Zoonotic Diseases*, 10(8), 771-775.
- Eritja, R., Escosa, R., Lucientes, J., Marques, E., Roiz, D., ve Ruiz, S. (2005). Worldwide invasion of vector mosquitoes: present European distribution and challenges for Spain. *Biological Invasions*, 7, 87-97.
- Espinal, M. A., Andrus, J. K., Jauregui, B., Waterman, S. H., Morens, D. M., Santos, J. I., ve Olson, D. (2019). Emerging and reemerging Aedes-transmitted arbovirus infections in the region of the Americas: implications for health policy. *American Journal of Public Health*, 109(3), 387-392.
- Excoffier, L., Lischer, H. E. (2010). Arlequin suite ver 3.5: a new series of programs to perform population genetics analyses under Linux and Windows. *Molecular Ecology Resources*, 10(3), 564-567.
- Excoffier, L., Smouse, P. E., Quattro, J. (1992). Analysis of molecular variance inferred from metric distances among DNA haplotypes: application to human mitochondrial DNA restriction data. *Genetics*, 131(2), 479-491
- Failloux, A. B., Bouattour, A., Faraj, C., Gunay, F., Haddad, N., Harrat, Z., ve Robert, V. (2017). Surveillance of arthropod-borne viruses and their vectors in the Mediterranean and Black Sea regions within the MediLabSecure Network. *Current Tropical Medicine Reports*, 4(1), 27-39

- Fang, Y., Zhang, J., Wu, R., Xue, B., Qian, Q., ve Gao, B. (2018). Genetic polymorphism study on *Aedes albopictus* of different geographical regions based on DNA barcoding. *BioMed Research International*, 2018, 1501430.
- Fedorova, M. V., Shvets, O. G., Yunicheva, Y. V., Medyanik, I. M., Ryabova, T. E., ve Otstavnova, A. D. (2018). Dissemination of invasive mosquito species, *Aedes (Stegomyia) aegypti* (L., 1762) and *Aedes (Stegomyia) albopictus* (Skuse, 1895) in the South of Krasnodar Region, Russia. *Problems of Particularly Dangerous Infections*, 2020(2), 135-137.
- Folmer, O., Black, M., Hoeh, W., Lutz, R., ve Vrijenhoek, R. (1994). DNA primers for amplification of mitochondrial cytochrome c oxidase subunit I from diverse metazoan invertebrates. *Molecular Marine Biology and Biotechnology*, 3, 294–299.
- Fonseca Júnior, D. P., Serpa, L. L. N., Barbosa, G. L., Pereira, M., Holcmam, M. M., Voltolini, J. C., Marques, G. R. A. M. (2019). Vetores de arboviroses no estado de São Paulo: 30 anos de *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus*. *Review Saude Publica*, 53, 84.
- Ganushkina, L. A., Elu, T., Bezzhonova, O. V., ve Sergiev, V. P. (2012). Detection of *Aedes (Stegomyia) albopictus* skus. Mosquitoes in the Russian federation. *Meditinskaja Parazitologija i Parazitarnye Bolezni*, 1(1), 3-4.
- Ganushkina, L. A., Patraman, I. V., Rezza, G., Migliorini, L., Litvinov, S. K., ve Sergiev, V. P. (2016). Detection of *Aedes aegypti*, *Aedes albopictus*, and *Aedes koreicus* in the Area of Sochi, Russia. *Vector-Borne and Zoonotic Diseases*, 16(1), 58-60.
- Gatt, P., Deeming, J. C., ve Schaffner, F. (2009). First record of *Aedes (Stegomyia) albopictus* (Skuse)(Diptera: Culicidae) in Malta. *European Mosquito Bulletin*, (27), 56-64.
- Genchi, C., Rinaldi, L., ve Cringoli, G. (2007). *Dirofilaria immitis* and *D. repens* in dog and cat and human infections. *Mappe parassitologiche*, 1(1), 39-209
- Giatropoulos, A., Emmanouel, N., Koliopoulos, G., ve Michaelakis, A. (2012). A study on distribution and seasonal abundance of *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae) population in Athens, Greece. *Journal of medical entomology*, 49(2), 262-269.
- Goindin, D., Delannay, C., Ramdini, C., Gustave, J., ve Fouque, F. (2015). Parity and longevity of *Aedes aegypti* according to temperatures in controlled conditions and consequences on dengue transmission risks. *PloS One*, 10(8), e0135489.
- Golding, N., Wilson, A. L., Moyes, C. L., Cano, J., Pigott, D. M., Velayudhan, R., ... ve Lindsay, S. W. (2015). Integrating vector control across diseases. *BMC Medicine*, 13(1), 1-6.

- Gould, E. A., Gallian, P., De Lamballerie, X., ve Charrel, R. N. (2010). First cases of autochthonous dengue fever and chikungunya fever in France: from bad dream to reality!. *Clinical Microbiology and Infection*, 16(12), 1702-1704.
- Gould, E., Pettersson, J., Higgs, S., Charrel, R., ve De Lamballerie, X. (2017). Emerging arboviruses: why today?. *One health*, 4, 1-13.
- Gubler, D. J. (1970). Competitive displacement of *Aedes (Stegomyia) polynesiensis* Marks by *Aedes (Stegomyia) albopictus* Skuse in laboratory populations. *Journal of Medical Entomology*, 7(2), 229-235.
- Gubler, D. J., ve Clark, G. G. (1995). Dengue/dengue hemorrhagic fever: the emergence of a global health problem. *Emerging Infectious Diseases*, 1(2), 55.
- Guzman, M. G., ve Harris, E. (2015). Dengue. *The Lancet*, 385(9966), 453-465.
- Guzman, M. G., Gubler, D. J., Izquierdo, A., Martinez, E., ve Halstead, S. B. (2016). Dengue infection. *Nature Reviews Disease Primers*, 2(1), 1-25.
- Haddad, N., Harbach, R. E., Chamat, S., ve Bouharoun-Tayoun, H. (2007). Presence of *Aedes albopictus* in Lebanon and Syria. *Journal of the American Mosquito Control Association*, 23(2), 226-228.
- Hao, Y. J., Zou, Y. L., Ding, Y. R., Xu, W. Y., Yan, Z. T., Li, X. D., ve Chen, B. (2017). Complete mitochondrial genomes of *Anopheles stephensi* and *An. dirus* and comparative evolutionary mitochondriomics of 50 mosquitoes. *Scientific Reports*, 7(1), 7666.
- Hawley, W. A. (1988). The biology of *Aedes albopictus*. *Journal of the American Mosquito Control Association*, 1, 1-39.
- Hayes, E. B. (2009). Zika virus outside Africa. *Emerging Infectious Diseases*, 15(9), 1347.
- Higa, Y., Toma, T., Tsuda, Y., ve Miyagi, I. (2010). A multiplex PCR-based molecular identification of five morphologically related, medically important subgenus *Stegomyia* mosquitoes from the genus *Aedes* (Diptera: Culicidae) found in the Ryukyu Archipelago, Japan. *Japanese Journal of Infectious Diseases*, 63(5), 312-316.
- Jain, V. K., ve Kumar, S. (2018). Effective surveillance and predictive mapping of mosquito-borne diseases using social media. *Journal of Computational Science*, 25, 406-415.
- Jansen, C. C., ve Beebe, N. W. (2010). The dengue vector *Aedes aegypti*: what comes next. *Microbes and Infection*, 12(4), 272-279.
- Johnson, D. J., Ostlund, E. N., Pedersen, D. D., ve Schmitt, B. J. (2001). Detection of North American West Nile virus in animal tissue by a reverse transcription-

- nested polymerase chain reaction assay. *Emerging Infectious Diseases*, 7(4), 739.
- Jones, K. E., Patel, N. G., Levy, M. A., Storeygard, A., Balk, D., Gittleman, J. L., ve Daszak, P. (2008). Global trends in emerging infectious diseases. *Nature*, 451(7181), 990-993.
- Jones, R., Kulkarni, M. A., Davidson, T. M., Radam-Lac Research Team, ve Talbot, B. (2020). Arbovirus vectors of epidemiological concern in the Americas: a scoping review of entomological studies on Zika, dengue and chikungunya virus vectors. *PLoS One*, 15(2), e0220753.
- Juliano, S. A., ve Philip Lounibos, L. (2005). Ecology of invasive mosquitoes: effects on resident species and on human health. *Ecology letters*, 8(5), 558-574.
- Kalaycioglu, H., Korukluoglu, G., Ozkul, A., Oncul, O., Tosun, S., Karabay, O., Gozalan, A., Uyar, Y., Caglayik, D. Y., Atasoylu, G., Altas, A. B., Yolbakan, S., Ozden, T. N., Bayrakdar, F., Sezak, N., Pelitli, T. S., Kurtcebe, Z. O., Aydin, E., ve Ertek, M. (2012). Emergence of West Nile virus infections in humans in Turkey, 2010 to 2011. *Eurosurveillance*, 17(21), 20182.
- Kambhampati, S., ve Rai, K. S. (1991). Mitochondrial DNA variation within and among populations of the mosquito *Aedes albopictus*. *Genome*, 34(2), 288-292.
- Kambhampati, S., Black, W. C., ve Rai, K. S. (1991). Geographic origin of the US and Brazilian *Aedes albopictus* inferred from allozyme analysis. *Heredity*, 67, 85-93.
- Kamgang, B., Brengues, C., Fontenille, D., Njiokou, F., Simard, F., ve Paupy, C. (2011). Genetic structure of the tiger mosquito, *Aedes albopictus*, in Cameroon (Central Africa). *PLoS One*, 6(5), e20257.
- Özcel, M. A., ve Daldal, N. (1997). *Parazitoloji'de Arthropod Hastalıkları, Vektörler*. Türkiye Parazitoloji Derneği Yayın No: 13. Ege Üniversitesi Basımevi. İzmir.
- Ketkar, H., Herman, D., ve Wang, P. (2019). Genetic determinants of the re-emergence of arboviral diseases. *Viruses*, 11(2), 150.
- Khater, E. I., Baig, F., Kamal, H. A., Powell, J. R., ve Saleh, A. A. (2021). Molecular phylogenetics and population genetics of the dengue vector *Aedes aegypti* from the Arabian Peninsula. *Journal of Medical Entomology*, 58(6), 2161-2176.
- Kiehl, W. (1999). Suspected case of haemorrhagic fever confirmed as yellow fever in Germany. *Weekly releases (1997-2007)*, 3(33), 1350.
- Knudsen, A. B. (1995). Global distribution and continuing spread of *Aedes albopictus*. *Parassitologia*, 37(1), 91-97

- Kobayashi, M., Nihei, N., ve Kurihara, T. (2002). Analysis of northern distribution of *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae) in Japan by geographical information system. *Journal of Medical Entomology*, 39(1), 4-11.
- Konorov, E. A., Yurchenko, V., Patraman, I., Lukashev, A., ve Oyun, N. (2021). The effects of genetic drift and genomic selection on differentiation and local adaptation of the introduced populations of *Aedes albopictus* in southern Russia. *PeerJ*, 9, e11776.
- Kotsakiozi, P., Gloria-Soria, A., Schaffner, F., Robert, V., ve Powell, J. R. (2018). *Aedes aegypti* in the Black Sea: recent introduction or ancient remnant?. *Parasites ve Vectors*, 11, 1-13.
- Kraemer, M. U., Reiner Jr, R. C., Brady, O. J., Messina, J. P., Gilbert, M., Pigott, D. M., ve Golding, N. (2019). Past and future spread of the arbovirus vectors *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus*. *Nature Microbiology*, 4(5), 854-863.
- Kraemer, M. U., Sinka, M. E., Duda, K. A., Mylne, A. Q., Shearer, F. M., Barker, C. M., ve Hay, S. I. (2015a). The global distribution of the arbovirus vectors *Aedes aegypti* and *Ae. albopictus*. *Elife*, 4, e08347.
- Kraemer, M. U., Sinka, M. E., Duda, K. A., Mylne, A., Shearer, F. M., Brady, O. J., ve Hay, S. I. (2015b). The global compendium of *Aedes aegypti* and *Ae. albopictus* occurrence. *Scientific Data*, 2(1), 1-8.
- Kumar, S., Stecher, G., ve Tamura, K. (2016). MEGA7: molecular evolutionary genetics analysis version 7.0 for bigger datasets. *Molecular Biology and Evolution*, 33(7), 1870-1874.
- Kuno, G. (2014). Early history of laboratory breeding of *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) focusing on the origins and use of selected strains. *Journal of Medical Entomology*, 47(6), 957-971.
- Kutateladze, T., Zangaladze, E., Dolidze, N., Mamatsashvili, T., Tskhvaradze, L., Andrews, E. S., ve Haddow, A. D. (2016). First record of *Aedes albopictus* in Georgia and updated checklist of reported species. *Journal of the American Mosquito Control Association*, 32(3), 230-233.
- Kutsuna, S., Kato, Y., Takasaki, T., Moi, M. L., Kotaki, A., Uemura, H., ve Ohmagari, N. (2014). Two cases of Zika fever imported from French Polynesia to Japan, December 2013 to January 2014. *Eurosurveillance*, 19(4), 20683.
- Lanciotti, R. S., Kerst, A. J., Nasci, R. S., Godsey, M. S., Mitchell, C. J., Savage, H. M., ve Roehrig, J. T. (2000). Rapid detection of West Nile virus from human clinical specimens, field-collected mosquitoes, and avian samples by a TaqMan reverse transcriptase-PCR assay. *Journal of Clinical Microbiology*, 38(11), 4066-4071.

- Le Goff, G., Brengues, C., ve Robert, V. (2013). *Stegomyia* mosquitoes in Mayotte, taxonomic study and description of *Stegomyia pia* n. sp. *Parasite*, 20, 31
- Leta, S., Beyene, T. J., De Clercq, E. M., Amenu, K., Kraemer, M. U., ve Revie, C. W. (2018). Global risk mapping for major diseases transmitted by *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus*. *International Journal of Infectious Diseases*, 67, 25-35.
- Leutenegger, C. M. (2009). The real-time TaqMan PCR and applications in veterinary medicine. *Veterinary Sciences Tomorrow*, 2001, 1-15.
- Librado, P., ve Rozas, J. (2009). DnaSP v5: a software for comprehensive analysis of DNA polymorphism data. *Bioinformatics*, 25(11), 1451-1452.
- Liu-Helmersson, J., Quam, M., Wilder-Smith, A., Stenlund, H., Ebi, K., Massad, E., ve Rocklöv, J. (2016). Climate change and *Aedes* vectors: 21st century projections for dengue transmission in Europe. *EBioMedicine*, 7, 267-277.
- Lourenco-de-Oliveira, R., Vazeille, M., de Filippis, A. M. B., ve Failloux, A. B. (2003). Large genetic differentiation and low variation in vector competence for dengue and yellow fever viruses of *Aedes albopictus* from Brazil, the United States, and the Cayman Islands. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 69(1), 105-114.
- Maia, R. T., Scarpassa, V. M., Maciel-Litaiff, L. H., ve Tadei, W. P. (2009). Reduced levels of genetic variation in *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae) from Manaus, Amazonas State, Brazil, based on analysis of the mitochondrial DNA ND5 gene. *Genetics and Molecular Research*, 8, 998–1007.
- Margarita, Y. S. G. A., Grácio, A. J., Lencastre, I., Silva, A. C., Novo, M. T., ve Sousa, C. A. (2006). First record of *Aedes (Stegomyia) aegypti* (Linnaeus, 1762)(Diptera, Culicidae) in Madeira Island-Portugal. *Acta Parasitológica Portuguesa*, 13(1), 59-61.
- Mavale, M., Parashar, D., Sudeep, A., Gokhale, M., Ghodke, Y., Geevarghese, G., ve Mishra, A. C. (2010). Venereal transmission of chikungunya virus by *Aedes aegypti* mosquitoes (Diptera: Culicidae). *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 83(6), 1242.
- Mayer, S. V., Tesh, R. B., ve Vasilakis, N. (2017). The emergence of arthropod-borne viral diseases: A global prospective on dengue, chikungunya and zika fevers. *Acta Tropica*, 166, 155-163.
- Maynard, A. J., Ambrose, L., Bangs, M. J., Ahmad, R., Butafa, C., ve Beebe, N. W. (2023). Population structure and invasion history of *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) in Southeast Asia and Australasia. *Evolutionary Applications*, 16, 849–862.

- Maynard, A. J., Ambrose, L., Cooper, R. D., Chow, W. K., Davis, J. B., Muzari, M. O., ve Beebe, N. W. (2017). Tiger on the prowl: Invasion history and spatio-temporal genetic structure of the Asian tiger mosquito *Aedes albopictus* (Skuse 1894) in the Indo-Pacific. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, *11*(4), e0005546
- Mboera, L. E., Mweya, C. N., Rumisha, S. F., Tungu, P. K., Stanley, G., Makange, M. R., ve Oriyo, N. M. (2016). The risk of dengue virus transmission in Dar es Salaam, Tanzania during an epidemic period of 2014. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, *10*(1), e0004313.
- Meco, O. (1977). West Nile arbovirus antibodies with hemagglutination inhibition (HI) in residents of Southeast Anatolia. *Mikrobiyoloji bülteni*, *11*(1), 3-17.
- Medlock, J. M., Hansford, K. M., Versteirt, V., Cull, B., Kampen, H., Fontenille, D., ve Schaffner, F. (2015). An entomological review of invasive mosquitoes in Europe. *Bulletin of Entomological Research*, *105*(6), 637-663.
- Merdivenci, A. (1984). *Türkiye Sivrisinekleri (Yurdumuzda Varlığı Bilinen Sivrisineklerin Biyo-Morfolojisi, Biyo-Ekolojisi, Yayılışı ve Sağlık Önemleri)*. İstanbul Üniversitesi. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Yayınları. Yayın No: 3215.
- Mitchell, C. J. (1995). Geographic spread of *Aedes albopictus* and potential for involvement in arbovirus cycles in the Mediterranean basin. *Journal of Vector Ecology*, *20*(1), 44-58.
- Mlakar, J., Korva, M., Tul, N., Popović, M., Poljšak-Prijatelj, M., Mraz, J., ve Avšič Županc, T. (2016). Zika virus associated with microcephaly. *New England Journal of Medicine*, *374*(10), 951-958.
- Monath, T. P., ve Cetron, M. S. (2002). Prevention of yellow fever in persons traveling to the tropics. *Clinical Infectious Diseases*, *34*(10), 1369-1378.
- Morales, D., Ponce, P., Cevallos, V., Espinosa, P., Vaca, D., ve Quezada, W. (2019). Resistance status of *Aedes aegypti* to deltamethrin, malathion, and temephos in Ecuador. *Journal of the American Mosquito Control Association*, *35*(2), 113-122.
- Morens, D. M., Folkers, G. K., ve Fauci, A. S. (2004). The challenge of emerging and re-emerging infectious diseases. *Nature*, *430*(6996), 242-249.
- Mori, A., Tsuda, Y., Takagi, M., Higa, Y., ve Severson, D. W. (2016). Multiple QTL determine dorsal abdominal scale patterns in the mosquito *Aedes aegypti*. *Journal of Heredity*, *107*(5), 438-444.
- Mousson, L., Dauga, C., Garrigues, T., Schaffner, F., Vazeille, M., ve Failloux, A. B. (2005). Phylogeography of *Aedes (Stegomyia) aegypti* (L.) and *Aedes (Stegomyia) albopictus* (Skuse)(Diptera: Culicidae) based on mitochondrial DNA variations. *Genetics Research*, *86*(1), 1-11.

- Moutailler, S., Barre, H., Vazeille, M., ve Failloux, A. B. (2009). Recently introduced *Aedes albopictus* in Corsica is competent to Chikungunya virus and in a lesser extent to dengue virus. *Tropical Medicine ve International Health*, *14*(9), 1105-1109.
- Murray, N. E. A., Quam, M. B., ve Wilder-Smith, A. (2013). Epidemiology of dengue: past, present and future prospects. *Clinical Epidemiology*, *1*, 299-309.
- Naim, D. M., Kamal, N. Z. M., ve Mahboob, S. (2020). Population structure and genetic diversity of *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus* in Penang as revealed by mitochondrial DNA cytochrome oxidase I. *Saudi journal of Biological Sciences*, *27*(3), 953-967.
- Nasci, R. S., Gottfried, K. L., Burkhalter, K. L., Kulasekera, V. L., Lambert, A. J., Lanciotti, R. S., ve Ryan, J. R. (2002). Comparison of Vero cell plaque assay, TaqMan® reverse transcriptase polymerase chain reaction RNA assay, and Vectest™ antigen assay for detection of West Nile virus in field-collected mosquitoes. *Journal-American Mosquito Control Association*, *18*(4), 294-300.
- Nelson, M. J. (1986). *Aedes aegypti*: biology and ecology. *Washington: Panamerican Health Organization*, *86*, 1-50.
- Ngoagouni, C., Kamgang, B., Nakouné, E., Paupy, C., ve Kazanji, M. (2015). Invasion of *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae) into central Africa: what consequences for emerging diseases?. *Parasites and Vectors*, *8*(1), 1-7.
- Niebylski, M. L., Savage, H. M., Nasci, R. S., ve Craig Jr, G. B. (1994). Blood hosts of *Aedes albopictus* in the United States. *Journal of the American Mosquito Control Association*, *10*(3), 447-450.
- Öter, K., Gunay, F., Tuzer, E., Linton, Y. M., Bellini, R., ve Alten, B. (2013). First record of *Stegomyia albopicta* in Turkey determined by active ovitrap surveillance and DNA barcoding. *Vector-Borne and Zoonotic Diseases*, *13*(10), 753-761.
- Ong, O. T., Skinner, E. B., Johnson, B. J., ve Old, J. M. (2021). Mosquito-borne viruses and non-human vertebrates in Australia: A review. *Viruses*, *13*(2), 265.
- Özkul, A., Yildirim, Y., Pinar, D., Akcali, A. L. P. E. R., Yilmaz, V., ve Colak, D. (2006). Serological evidence of West Nile Virus (WNV) in mammalian species in Turkey. *Epidemiology and Infection*, *134*(4), 826-829.
- Paduan, K. D. S., ve Ribolla, P. E. M. (2008). Mitochondrial DNA polymorphism and heteroplasmy in populations of *Aedes aegypti* in Brazil. *Journal of Medical Entomology*, *45*(1), 59-67.
- Paixão, E. S., Teixeira, M. G., ve Rodrigues, L. C. (2018). Zika, chikungunya and dengue: the causes and threats of new and re-emerging arboviral diseases. *BMJ global health*, *3*(1), e000530.

- Parola, P., De Lamballerie, X., Jourdan, J., Rovey, C., Vaillant, V., Minodier, P., ve Charrel, R. N. (2006). Novel chikungunya virus variant in travelers returning from Indian Ocean islands. *Emerging Infectious Diseases*, 12(10), 1493.
- Patterson, J., Sammon, M., ve Garg, M. (2016). Dengue, Zika and chikungunya: emerging arboviruses in the New World. *Western Journal of Emergency Medicine*, 17(6), 671-679.
- Paupy, C., Delatte, H., Bagny, L., Corbel, V., ve Fontenille, D. (2009). *Aedes albopictus*, an arbovirus vector: from the darkness to the light. *Microbes and Infection*, 11(14-15), 1177-1185.
- Paupy, C., Girod, R., Salvan, M., Rodhain, F., ve Failloux, A. B. (2001). Population structure of *Aedes albopictus* from La Reunion Island (Indian Ocean) with respect to susceptibility to a dengue virus. *Heredity*, 87(3), 273-283.
- Petric, D. (2009). *Monitoring of invasive vector mosquitoes and vectorborne diseases*. Report to Administration for Environmental Protection, Novi Sad City, 1-9.
- Pialoux, G., Gaüzère, B. A., Jauréguiberry, S., ve Strobel, M. (2007). Chikungunya, an epidemic arbovirolosis. *The Lancet infectious diseases*, 7(5), 319-327.
- Pichler, V., Kotsakiozi, P., Caputo, B., Serini, P., Caccone, A., ve Della Torre, A. (2019). Complex interplay of evolutionary forces shaping population genomic structure of invasive *Aedes albopictus* in southern Europe. *PLOS Neglected Tropical Diseases*, 13(8), e0007554.
- Pollett, S., Melendrez, M. C., Berry, I. M., Duchêne, S., Salje, H., Cummings, D. A. T., ve Jarman, R. G. (2018). Understanding dengue virus evolution to support epidemic surveillance and counter-measure development. *Infection, Genetics and Evolution*, 62, 279-295.
- Porretta, D., Mastrantonio, V., Bellini, R., Somboon, P., ve Urbanelli, S. (2012). Glacial history of a modern invader: phylogeography and species distribution modelling of the Asian tiger mosquito *Aedes albopictus*. *PLoS One*, 7, e44515.
- Porter, C. H., ve Collins, F. H. (1991). Species-diagnostic differences in a ribosomal DNA internal transcribed spacer from the sibling species *Anopheles freeborni* and *Anopheles hermsi* (Diptera: Culicidae). *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 45(2), 271-279.
- Posada, D., ve Crandall, K. A. (1998). MODELTEST: testing the model of DNA substitution. *Bioinformatics (Oxford, England)*, 14(9), 817-818.
- Ramchurn, S. K., Moheput, K., ve Goorah, S. S. (2009). An analysis of a short-lived outbreak of dengue fever in Mauritius. *Eurosurveillance*, 14(34), 19314.
- Rašić, G., Filipović, I., Callahan, A. G., Stanford, D., Chan, A., Lam-Phua, S. G., ve Hoffmann, A. A. (2016). The queenslandensis and the type form of the dengue

- fever mosquito (*Aedes aegypti* L.) are genomically indistinguishable. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, 10(11), e0005096.
- Reinert, J. F., Harbach, R. E., ve Kitching, I. J. (2004). Phylogeny and classification of Aedini (Diptera: Culicidae), based on morphological characters of all life stages. *Zoological Journal of the Linnean Society*, 142(3), 289-368.
- Reiter, P. (2010). Yellow fever and dengue: a threat to Europe?. *Eurosurveillance*, 15(10), 19509.
- Reiter, P., ve Sprenger, D. (1987). The used tire trade: a mechanism for the worldwide dispersal of container breeding mosquitoes. *Journal of the American Mosquito Control Association*, 3(3), 494-501.
- Rezza, G., Nicoletti, L., Angelini, R., Romi, R., Finarelli, A. C., Panning, M., ve Cassone, A. (2007). Infection with chikungunya virus in Italy: an outbreak in a temperate region. *The Lancet*, 370(9602), 1840-1846.
- Riabova, T. E., IuV, I., NIa, M., Ganushkina, L. A., Orabeĭ, V. G., ve Sergiev, V. P. (2005). Detection of *Aedes (Stegomyia) aegypti* L. mosquitoes in Sochi city. *Meditssinskaia Parazitologiia i Parazitarnye Bolezni*, 3(3), 3-5.
- Richards, S. L., Ponnusamy, L., Unnasch, T. R., Hassan, H. K., ve Apperson, C. S. (2006). Host-feeding patterns of *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae) in relation to availability of human and domestic animals in suburban landscapes of central North Carolina. *Journal of Medical Entomology*, 43(3), 543-551.
- Rochlin, I., Ninivaggi, D. V., Hutchinson, M. L., ve Farajollahi, A. (2013). Climate change and range expansion of the Asian tiger mosquito (*Aedes albopictus*) in Northeastern USA: implications for public health practitioners. *PloS One*, 8(4), e60874.
- Ruiling, Z., Peien, L., Xuejun, W., ve Zhong, Z. (2018). Molecular analysis and genetic diversity of *Aedes albopictus* (Diptera, Culicidae) from China. *Mitochondrial DNA Part A*, 29(4), 594-599.
- Ryan, S. J., Carlson, C. J., Mordecai, E. A., ve Johnson, L. R. (2019). Global expansion and redistribution of Aedes-borne virus transmission risk with climate change. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, 13(3), e0007213.
- Sabatini, A., Raineri, V., Trovato, G., ve Coluzzi, M. (1990). *Aedes albopictus* in Italy and possible diffusion of the species into the Mediterranean area. *Parassitologia*, 32(3), 301-304.
- Saldaña, M. A., Hegde, S., ve Hughes, G. L. (2017). Microbial control of arthropod-borne disease. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 112, 81-93.

- Samanidou-Voyadjoglou, A., Patsoula, E., Spanakos, G., ve Vakalis, N. C. (2005). Confirmation of *Aedes albopictus* (Skuse)(Diptera: Culicidae) in Greece. *European Mosquito Bulletin*, 19, 10-12.
- Sánchez-Seco, M. P., Echevarría, J. M., Hernandez, L., Estévez, D., Navarro-Marí, J. M., ve Tenorio, A. (2003). Detection and identification of Toscana and other phleboviruses by RT-nested-PCR assays with degenerated primers. *Journal of Medical Virology*, 71(1), 140-149.
- Sánchez-Seco, M. P., Rosario, D., Domingo, C., Hernández, L., Valdés, K., Guzmán, M. G., ve Tenorio, A. (2005). Generic RT-nested-PCR for detection of flaviviruses using degenerated primers and internal control followed by sequencing for specific identification. *Journal of Virological Methods*, 126(1-2), 101-109.
- Sánchez-Seco, M. P., Rosario, D., Quiroz, E., Guzmán, G., ve Tenorio, A. (2001). A generic nested-RT-PCR followed by sequencing for detection and identification of members of the alphavirus genus. *Journal of Virological Methods*, 95(1-2), 153-161.
- Schaffner, F., ve Mathis, A. (2014). Dengue and dengue vectors in the WHO European region: past, present, and scenarios for the future. *The Lancet Infectious Diseases*, 14(12), 1271-1280.
- Schaffner, F., Angel, G., Geoffroy, B., Hervy, J. P., Rhaïem, A., ve Brunhes, J. (2001). Les moustiques d'Europe: logiciel d'identification et d'enseignement= The mosquitoes of Europe: an identification and training programme. Paris (FRA); Montpellier : IRD ; EID, 1 CD ROM (Didactiques). ISBN 2-7099-1485-9.
- Scholte, E. J., ve Schaffner, F. (2007). 14. Waiting for the tiger: establishment and spread of the *Aedes albopictus* mosquito in Europe. *Emerging Pests and Vector-Borne Diseases in Europe*, 1, 241.
- Shaikovich, E., ve Talbalaghi, A. (2013). Molecular characterization of the Asian tiger mosquito *Aedes albopictus* (Skuse)(Diptera: Culicidae) in northern Italy. *International Scholarly Research Notices*, 2013, 1-6.
- Shaikovich, E.V., Patraman, I.V., Bogacheva, A.S., Rakova, V. M., Zelya, O. P., ve Ganushkina, L. A. (2018). Invasive mosquito species *Aedes albopictus* and *Aedes aegypti* on the Black Sea coast of the Caucasus: genetics (COI, ITS2), Wolbachia and Dirofilaria infections. *Zhurnal Genetiki i Selektzii= Vavilov Journal of Genetics and Breeding*, 22(5), 574-585.
- Sherpa, S., Blum, M. G., Capblancq, T., Cumer, T., Rioux, D., ve Després, L. (2019). Unravelling the invasion history of the Asian tiger mosquito in Europe. *Molecular Ecology*, 28(9), 2360-2377.
- Simon, C., Frati, F., Beckenbach, A., Crespi, B., Liu, H., ve Flook, P. (1994). Evolution, weighting, and phylogenetic utility of mitochondrial gene

- sequences and a compilation of conserved polymerase chain reaction primers. *Annals of the entomological Society of America*, 87(6), 651-701.
- Smith, J. L., ve Fonseca, D. M. (2004). Rapid assays for identification of members of the *Culex (Culex) pipiens* complex, their hybrids, and other sibling species (Diptera: Culicidae). *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 70(4), 339-345.
- Soghigian, J., Gloria-Soria, A., Robert, V., Le Goff, G., Failloux, A. B., ve Powell, J. R. (2020). Genetic evidence for the origin of *Aedes aegypti*, the yellow fever mosquito, in the southwestern Indian Ocean. *Molecular Ecology*, 29(19), 3593-3606.
- Sousa, C. A., Clairouin, M., Seixas, G., Viveiros, B., Novo, M. T., Silva, A. C., ve Economopoulou, A. (2012). Ongoing outbreak of dengue type 1 in the Autonomous Region of Madeira, Portugal: preliminary report. *Eurosurveillance*, 17(49), 20333.
- Soumahoro, M. K., Fontenille, D., Turbelin, C., Pelat, C., Boyd, A., Flahault, A., ve Hanslik, T. (2010). Imported chikungunya virus infection. *Emerging infectious diseases*, 16(1), 162.
- Souza-Neto, J. A., Powell, J. R., ve Bonizzoni, M. (2019). *Aedes aegypti* vector competence studies: A review. *Infection, Genetics and Evolution*, 67, 191-209.
- Stafinakos J.N., Heymann D. (2005). *West Nile Virus (Deadly Diseases and Epidemics)*, Chelsea House Publications. New York, USA. pp.108.
- Staples, J. E., Breiman, R. F., ve Powers, A. M. (2009). Chikungunya fever: an epidemiological review of a re-emerging infectious disease. *Clinical Infectious Diseases*, 49(6), 942-948.
- Sukhralia, S., Verma, M., Gopirajan, S., Dhanaraj, P. S., Lal, R., Mehla, N., ve Kant, C. R. (2019). From dengue to Zika: the wide spread of mosquito-borne arboviruses. *European Journal of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*, 38, 3-14.
- Tilston, N., Skelly, C., ve Weinstein, P. (2009). Pan-European Chikungunya surveillance: designing risk stratified surveillance zones. *International Journal of Health Geographics*, 8(1), 1-11.
- Turell, M. J., Dohm, D. J., Sardelis, M. R., O'guinn, M. L., Andreadis, T. G., ve Blow, J. A. (2005). An update on the potential of North American mosquitoes (Diptera: Culicidae) to transmit West Nile virus. *Journal of Medical Entomology*, 42(1), 57-62.
- Urbanelli, S., Bellini, R., Carrieri, M., Sallicandro, P., ve Celli, G. (2000). Population structure of *Aedes albopictus* (Skuse): the mosquito which is colonizing Mediterranean countries. *Heredity*, 84(3), 331-337.

- Usmani-Brown, S., Cohnstaedt, L., ve Munstermann, L. E. (2009). Population genetics of *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae) invading populations, using mitochondrial nicotinamide adenine dinucleotide dehydrogenase subunit 5 sequences. *Annals of the Entomological Society of America*, 102(1), 144-150.
- Uyar, Y., ve Bakır, E. (2016). West Nile Virus (WNV) and current status of West Nile Virus in Turkey. *Turkish Bulletin of Hygiene and Experimental Biology*, 73(3), 279-292.
- Van Gompel, A., ve Van Bortel, W. (2008). Emerging pests and vector-borne diseases in Europe. *Emerging Infectious Diseases*, 14(11), 1827.
- Waldock, J., Chandra, N. L., Lelieveld, J., Proestos, Y., Michael, E., Christophides, G., ve Parham, P. E. (2013). The role of environmental variables on *Aedes albopictus* biology and chikungunya epidemiology. *Pathogens and global health*, 107(5), 224-241.
- Weaver, S. C., ve Lecuit, M. (2015). Chikungunya virus and the global spread of a mosquito-borne disease. *New England Journal of Medicine*, 372(13), 1231-1239.
- Weaver, S. C., ve Reisen, W. K. (2010). Present and future arboviral threats. *Antiviral Research*, 85(2), 328-345.
- Weaver, S. C., Charlier, C., Vasilakis, N., ve Lecuit, M. (2018). Zika, chikungunya, and other emerging vector-borne viral diseases. *Annual Review of Medicine*, 69, 395-408.
- Weaver, S. C., Costa, F., Garcia-Blanco, M. A., Ko, A. I., Ribeiro, G. S., Saade, G., ve Vasilakis, N. (2016). Zika virus: History, emergence, biology, and prospects for control. *Antiviral Research*, 130, 69-80.
- WHO. (2016). Zika Virus Factsheet. 22.02.2021 tarihinde https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/zika-virus?gclid=EAIaIQobChMImeaSg4fh_gIVmQU GAB0KmQPVEAAYASAAEgKA4_D_BwE adresinden alındı.
- WHO. (2017). *Global vector control response 2017–2030*. 15.02.2023 tarihinde https://apps.who.int/gb/ebwha/pdf_files/WHA70/A70_R16-en.pdf?ua=1 adresinden alındı.
- WHO. (2019). *Yellow-fever*. 20.05.2023 tarihinde <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/yellow-fever> adresinden alındı.
- WHO. (2022). *Chikungunya*. 21.05.2023 tarihinde <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/Chikungunya> adresinden alındı.
- Wilder-Smith, A., Gubler, D. J., Weaver, S. C., Monath, T. P., Heymann, D. L., ve Scott, T. W. (2017). Epidemic arboviral diseases: priorities for research and public health. *The Lancet Infectious Diseases*, 17(3), e101-e106.

- Wilder-Smith, A., Ooi, E. E., Vasudevan, S. G., ve Gubler, D. J. (2010). Update on dengue: epidemiology, virus evolution, antiviral drugs, and vaccine development. *Current Infectious Disease Reports*, 12, 157-164.
- Yavaşoğlu, S. İ. (2021). First report on mild insecticide resistance in newly established Aegean *Aedes albopictus* populations of Turkey. *Turkish Journal of Zoology*, 45(3), 223-234.
- Yazici, Z., Albayrak, H., Ozan, E., ve Gumusova, S. (2012). The first investigation of West Nile virus in horses using real time RT-PCR in Middle Black Sea Region in Turkey. *Journal of Arthropod-Borne Diseases*, 6(2), 151-155.
- Yohan, B., Fauziah, Y., Sayono, S., Trimarsanto, H., ve Sasmono, R. T. (2018). Genetic diversity of *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) isolated from five cities in north coast area of Central Java, Indonesia. *Southeast Asian Journal of Tropical Medicine and Public Health*, 49(2), 217-226.
- Young, P. R. (2018). Arboviruses: a family on the move. *Dengue and Zika: Control and Antiviral Treatment Strategies*, 1062, 1-10.
- Yunicheva, Y. U., Ryabova, T. E., Markovich, N. Y., Bezzhonova, O. V., Ganushkina, L. A., Semenov, V. B., ve Sergiev, V. P. (2008). First data on the presence of breeding populations of the *Aedes aegypti* L. mosquito in Greater Sochi and various cities of Abkhazia. *Meditinskaiia Parazitologiia I Parazitarnye Bolezni*, 3, 40-43.
- Zawani, M. K. N., Abu, H. A., Sazaly, A. B., Zary, S. Y., ve Darlina, M. N. (2014). Population genetic structure of *Aedes albopictus* in Penang, Malaysia. *Genetics and Molecular Research*, 13(4), 8184-8196.
- Zayed, A., Awash, A. A., Esmail, M. A., Al-Mohamadi, H. A., Al-Salwai, M., Al-Jasari, A., ve Mnzava, A. (2012). Detection of Chikungunya virus in *Aedes aegypti* during 2011 outbreak in Al Hodayda, Yemen. *Acta tropica*, 123(1), 62-66.
- Zeller, H., Van Bortel, W., ve Sudre, B. (2016). Chikungunya: its history in Africa and Asia and its spread to new regions in 2013–2014. *The Journal of Infectious Diseases*, 214(5), 436-440.
- Zé-Zé, L., Borges, V., Osório, H. C., Machado, J., Gomes, J. P., ve Alves, M. J. (2020). Mitogenome diversity of *Aedes (Stegomyia) albopictus*: Detection of multiple introduction events in Portugal. *PLOS Neglected Tropical Diseases*, 14(9), e0008657.
- Zhong, D., Lo, E., Hu, R., Metzger, M. E., Cummings, R., Bonizzoni, M., ve Yan, G. (2013). Genetic analysis of invasive *Aedes albopictus* populations in Los Angeles County, California and its potential public health impact. *PloS One*, 8(7), e68586.

Žitko, T., Kovačić, A., Desdevises, Y. ve Puizina, J. (2011). Genetic variation in East-Adriatic populations of the Asian tiger mosquito, *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae), inferred from NADH5 and COI sequence variability. *European Journal of Entomology*, 108(4), 501–508.

